



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BEATRIZ JERÔNIMO PEREIRA VASCONCELOS

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DOS SUBPRODUTOS DOS RIZOMAS
DE *Curcuma longa* L SOBRE *Aedes aegypti* E *Mus musculus***

RECIFE
2022

BEATRIZ JERÔNIMO PEREIRA VASCONCELOS

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DOS SUBPRODUTOS DOS RIZOMAS DE
Curcuma longa L SOBRE *Aedes aegypti* E *Mus musculus***

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutica.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes.
Co-orientadora: MSc. Mariza Severina de Lima Silva.

RECIFE

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Vasconcelos, Beatriz Jerônimo Pereira.

Avaliação toxicológica dos subprodutos dos rizomas de *Curcuma longa* L sobre *Aedes aegypti* e *Mus musculus* / Beatriz Jerônimo Pereira Vasconcelos. - Recife, 2022.

53 : il., tab.

Orientador(a): Alexandre José da Silva Góes

Cooorientador(a): Mariza Severina de Lima Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2022.

Inclui referências, anexos.

1. Produtos naturais. 2. Atividade larvicida. 3. *Aedes aegypti*. 4. Arboviroses. 5. *Curcuma longa* L. I. Góes, Alexandre José da Silva. (Orientação). II. Silva, Mariza Severina de Lima . (Coorientação). III. Título.

540 CDD (22.ed.)

BEATRIZ JERÔNIMO PEREIRA VASCONCELOS
AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DOS SUBPRODUTOS DOS RIZOMAS DE
Curcuma longa* L SOBRE *Aedes aegypti* E *Mus musculus

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Farmacêutica e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Recife, 24 de outubro de 2022.

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 ALEXANDRE JOSE DA SILVA GOES
Data: 24/10/2022 13:56:32-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes

Orientador

Documento assinado digitalmente
 JOSE GILDO DE LIMA
Data: 24/10/2022 16:35:44-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. José Gildo de Lima

Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 LUIZ ALBERTO LIRA SOARES
Data: 24/10/2022 14:08:40-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 MAGDA RHAYANNY ASSUNCAO FERREIRA
Data: 24/10/2022 15:16:01-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Magda Rhayanny Assunção Ferreira

(Suplente)

Universidade Federal de Pernambuco

Recife, 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, especialmente aos meus pais, que desde o início encorajou eu e os meus irmãos, a buscar o conhecimento e partir disso, trilhar nossas vidas e transformar o mundo em um lugar melhor.

Ao meu orientador, Alexandre Góes, por ter me recebido de portas abertas em seu laboratório, onde fazer conhecimento era prática diária nossa. Meu imenso agradecimento pelos ensinamentos, dedicação e contribuição em minha formação acadêmica.

Mary Lima, foi quem segurou a minha mão e me fez olhar para a ciência com um jeito especial, foi quem compartilhou comigo uma bagagem de conhecimentos. Ela é aquela pessoa que sempre está disposta a ajudar, é quem se faz presente em minha vida, e que me aturou por muitos anos no laboratório e sempre acreditou em mim. E seu empenho foi essencial a me motivar nos momentos de dificuldades que surgiram durante a caminhada até aqui. A você a minha imensa gratidão por tudo, obrigada por ter sido professora, orientadora, amiga, irmã e uma família que eu encontrei fora de casa.

A minha irmã, Patrícia, pois, ela é um exemplo a ser seguido, de dedicação, ética, e além do mais é uma profissional ímpar, e foi quem me deu moradia no Recife durante toda a minha graduação e me incentivou a todo tempo.

Agradeço a minhas amigas, Emanuelle e Thammyris, por ter feito desses 5 anos de graduação, os melhores da minha vida, por ter compartilhado momentos, sorrisos e choros. Nós três juntas, somos união, parceria, amizade e cumplicidade e que fez essa caminhada mais feliz.

Agradeço ao Professor Luiz Alberto, Magda Rhayanny e a estudante Evelyn pela ajuda e contribuição ao meu trabalho.

Agradeço também a Rômulo, Marcilene e Profa. Ivone, por ter ajudado na realização dos testes larvicidas e pré-clínicos, onde a ajuda deles foi fundamental para finalização dessa monografia.

Por fim, agradeço, embora não nominalmente, a todos que de forma direta ou indireta contribuíram em minha formação acadêmica e ao desenvolvimento desse trabalho.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcuta)

RESUMO

A *Curcuma longa* L. é uma planta pertencente à família das Zingiberaceae, rica em óleos essenciais, contendo em sua composição química sesquiterpenos oxigenados, pigmentos curcuminóides tais como: curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina. Essa planta apresenta diversas propriedades farmacológicas relevantes que são capazes de atuarem com eficácia em uma diversidade de ações. As arboviroses como a Dengue, Chikungunya, Zika são causadas pelo mosquito *Aedes aegypti*. O controle dessas enfermidades, depende principalmente do combate ao mosquito, por meio do uso de produtos químicos sintéticos, como os organofosforados, carbamatos e piretróides. No entanto, a utilização contínua, repetida e inadequada desses produtos vem promovendo a criação de cepas resistentes, desse modo a busca por compostos bioativos vem sendo intensificada. Para obtenção da curcumina e do óleo fixo, foi aplicado o método de extração e purificação simultânea com bons rendimentos, 1,18 e 1,84% respectivamente. Em relação a atividade larvicida, foi avaliada segundo a metodologia preconizada pela Organização Mundial de Saúde (adaptada), contra as larvas de terceiro e quarto instar de *Aedes aegypti*. O trabalho experimental utilizando camundongos Swiss (*Mus musculus*) foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Toxicologia do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, mantendo os padrões experimentais utilizados que são estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentos Animais (CONCEA). Dos subprodutos obtidos, apenas o óleo fixo, demonstrou resultados promissores para o desenvolvimento de produtos larvicidas contra as larvas do *Aedes aegypti*, apresentando mortalidade larval de 100% na concentração de 2,0mg mL⁻¹. No que diz respeito a toxicidade em mamíferos, foi realizado a avaliação da atividade toxicológica aguda (DL₅₀) do óleo fixo em fêmeas adultas de camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*), pelo qual foi capaz de rastrear a dose de segurança destes compostos, sendo então de 2000 mg.kg⁻¹. Portanto, o óleo fixo apresenta-se promissor para o combate ao *Aedes aegypti* e seguro para o uso em mamíferos, sendo necessário mais estudos para comprovar ainda mais a sua eficácia como inseticida natural.

Palavras-chave: Produtos naturais; Atividade larvicida; *Aedes aegypti*; Arboviroses; *Curcuma longa* L.

ABSTRACT

Curcuma longa L. is a plant belonging to the family of Zingiberaceae, rich in essential oils, containing in its chemical composition oxygenated sesquiterpenes, curcuminoid pigments such as: curcumin, desmetoxicurcumin and bisdesmetoxicurcumin. This plant has several relevant pharmacological properties that are capable of acting effectively in a variety of actions. Arboviruses such as Dengue, Chikungunya, Zika are caused by the *Aedes aegypti* mosquito. The control of these diseases depends mainly on the fight against the mosquito, through the use of synthetic chemicals, such as organophosphates, carbamates and pyrethroids. However, the continuous, repeated and inadequate use of these products has been promoting the creation of resistant strains, thus the search for bioactive compounds has been intensified. To obtain curcumin and fixed oil, the simultaneous extraction and purification method with good yields was applied, 1.18 and 1.84%, respectively. In relation to larvicidal activity, it was evaluated according to the methodology recommended by the World Health Organization (adapted), against the larvae of third and fourth instar of *Aedes aegypti*. The experimental work using Swiss mice (*Mus musculus*) was carried out at the Toxicology Research Laboratory of the Department of Antibiotics of the Federal University of Pernambuco-UFPE, maintaining the experimental standards used that are established by the National Council for The Control of Animal Experiments (CONCEA). Of the by-products obtained, only fixed oil showed promising results for the development of larvicide products against *Aedes aegypti* larvae, presenting larval mortality of 100% at the concentration of 2.0mg mL⁻¹. With regard to mammalian toxicity, the evaluation of the acute toxicological activity (DL₅₀) of fixed oil in adult females of Swiss albino mice (*Mus musculus*) was performed, by which it was able to track the safety dose of these compounds, then 2000 mg.kg⁻¹. Therefore, fixed oil is promising for the squander to *Aedes aegypti* and safe for use in mammals, and further studies are needed to further prove its efficacy as a natural insecticide.

Keywords: Natural products; Larvicidal activity; *Aedes aegypti*; Arboviruses; *Curcuma longa* L.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Curcuma longa</i> L (Açafrão da Terra).....	17
Figura 2 - Estruturas químicas dos curcuminóides.....	18
Figura 3 - Ciclo de vida do <i>Aedes aegypti</i>	20
Figura 4 - Aparelho Góes. Divisão do corpo da coluna.....	26
Figura 5 - Esquema dos bioensaios larvicidas.....	29
Figura 6 - Curva analítica média para o padrão curcumina.....	33
Figura 7 - Perfil cromatográfico por CLAE, nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 430 nm (B), do extrato obtido por decocção sob refluxo.....	34
Figura 8 - Perfil cromatográfico por CLAE, nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 430 nm (B), do extrato obtido por sohxlet.....	35
Figura 9 – Comparação entre os perfis cromatográficos do padrão curcumina (A) e dos extratos obtidos por decocção sob refluxo (B) e sohxlet (C), no comprimento de onda de 430 nm.....	36
Figura 10 - Análise histológica nos rins, fígado e baço dos animais decorrentes da administração de 2000 mg kg ⁻¹ do óleo fixo da <i>Curcuma longa</i> L.....	43
Gráfico 1 - Mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> em 24h de exposição.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Áreas obtidas para os picos da curva analítica da curcumina.....	32
Tabela 2 - Mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> nos intervalos de 1,2,4,8, 16 e 24h do óleo fixo, isolado da <i>Curcuma longa</i> L	37
Tabela 3 - Mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> nos intervalos de 24h do extrato curcumina, isolado da <i>Curcuma longa</i> L.....	37
Tabela 4 - Principais reações comportamentais relacionadas à dose de 2000 mg kg ⁻¹ administrada na avaliação da toxicidade aguda do óleo fixo extraído dos rizomas da <i>Curcuma longa</i> L.....	40
Tabela 5 - Consumo de água, ração e peso corporal dos camundongos do grupo controle e do grupo tratado por via oral com o óleo fixo, por 14 dias após a observação.....	42
Tabela 6 - Níveis séricos sanguíneos de transaminases (TGO e TGP), creatinina, uréia e ácido úrico dos camundongos do grupo controle e do grupo tratado por via oral com o óleo fixo	42
Tabela 7 - Parâmetros hematológicos dos camundongos do grupo controle e do grupo tratado por via oral pelo óleo fixo obtido dos rizomas da <i>Curcuma longa</i> L, após 14 dias da administração.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ae.	<i>Aedes</i>
Al ₂ O ₃	Alumina
CCD	Placas cromatográficas
CCD- AE	Cromatografia Delgada de Alta Eficiência
CHIKV	Chikungunya
CLAE-DAD	Cromatografia Líquida de alta eficiência com detecção DAD
DENV	Dengue
DL50	Dose letal mediana
DL90	Dose letal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FHD	Febre Hemorrágica da Dengue
GC	Grupo Controle
SE	Semana epidemiológica
SiO ₂	Sílica em gel
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema nervoso central
Rf	Fator de retenção
ZIKV	Zika vírus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	<i>CURCUMA LONGA</i> L.	17
3.1.1	Características Botânicas	17
3.1.2	Composição Química	18
3.1.3	Propriedades farmacológicas	19
3.2	<i>Aedes aegypti</i> E AS ARBOVIROSES	19
3.2.1	Dengue	21
3.2.2	Chikungunya	22
3.2.3	Zika	23
3.2.4	Febre amarela urbana	24
3.3	CONTROLE DO <i>Aedes aegypti</i>	24
4	METODOLOGIA	25
4.1	NOVO MÉTODO DE EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO SIMULTÂNEA	25
4.2	ANÁLISES DAS COMPOSIÇÕES QUÍMICAS DOS EXTRATOS	27
4.2.1	Preparo do extrato por decocção sob refluxo	27
4.2.2	Método cromatográfico	27
4.2.3	Preparo das amostras	28
4.3.1	Avaliação da atividade larvicida	28
4.4	ENSAIOS TOXICOLÓGICOS	30
4.4.1	Avaliação toxicológica em <i>M. musculus</i>	30
4.4.2	Análises histológicas, hematológicas e bioquímicas	31
4.4.3	Análise estatística	31

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.3 SINAIS CLÍNICOS, MORTALIDADE E ESTIMATIVA DA CATEGORIA TOXICOLÓGICA DO ÓLEO FIXO SOBRE O <i>M. musculus</i>	39
5.5 PARÂMETROS BIOLÓGICOS	41
5.7 PARÂMETROS HISTOLÓGICOS	43
4 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	45
ANEXO A – Certificado CEUA	53

1 INTRODUÇÃO

A *Curcuma longa* L. é uma planta pertencente à família das Zingiberaceae, é utilizada há muitos anos. Originária da Índia e do sudeste da Ásia, e conseqüentemente se expandiu pela América e algumas regiões da Europa (ALONSO, 1998). É conhecida popularmente como: açafrão, açafrão-da-terra, açafrão-da-índia, cúrcuma, turmérico e gengibre amarelo. A *Curcuma longa* L é composta por óleos essenciais, que são ricos em sesquiterpenos oxigenados, sendo esse responsável pela característica pungente da planta. Dentre os compostos presentes nesse vegetal, encontram-se três pigmentos curcuminóides: curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina, presentes no rizoma em concentrações diferentes, entretanto tendo a curcumina como principal substância ativa (60 a 76%) (GRANDI, 2014). A cúrcuma apresenta diversas propriedades medicinais relevantes, tais como: anti-inflamatório (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009; KUPTNIRATSAIKUL *et al.*, 2014; DAILY; YANG; PARK, 2016; ARAUJO, 2015), antidiarreica, diurética, antiescorbútica, antiespasmódica, hepatoprotetora (GRANDI, 2014), antioxidante e neuroprotetora (KIM; KIM; YANG, 2014), anticonvulsivantes, atividade em Sistema Nervoso Central (ALONSO, 2016), antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009), antiartrítico (ALMEIDA, 2006), anti-HIV, antiparasitário, inibidor da carcinogênese (ARAUJO; LEON, 2001), dentre outras. Portanto, é uma planta importante do ponto de vista científico, que incita diversos estudos, para o descobrimento de novas propriedades promissoras.

O *Aedes aegypti* é uma espécie de mosquito pertencente à família Culicidae, que nos últimos anos se disseminou de maneira rápida por todas as regiões do mundo. É o vetor das arboviroses como a dengue, Chikungunya e do vírus Zika, sendo responsável por frequentes epidemias, onde a prevalência das populações de *Aedes aegypti* é atualmente considerado um dos principais problemas de saúde pública (OPAS, 2021). A dengue é considerada uma doença febril aguda, o tipo clássico é de evolução benigna e o tipo hemorrágico é grave. É uma das arboviroses mais recorrentes que infectam o homem e é um grave problema, principalmente nos países tropicais, onde as condições ambientais são propícias à reprodução do *Aedes aegypti* (BRASIL, 2002). De acordo com a Organização Mundial, dados estatísticos mostram que 3 bilhões de pessoas que estão localizadas em regiões de risco de contágio no mundo podem contrair a doença, e que anualmente, estima-se a ocorrência de 50

milhões de casos, apresentando 500 mil infecções em sua forma grave de Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) (OPAS, 2021). Outra arbovirose, bastante comum é a chikungunya (CHIKV), pelo qual foi inserida ao continente americano no ano de 2013, resultando em uma considerável onda epidêmica atingindo vários países da América Central e ilhas do Caribe. A infecção pelo vírus Chikungunya produz uma síndrome febril de início súbito e debilitante, por conta da alta intensidade de sintomas articulares (BRASIL, 2020). No Brasil, em 2021 ocorreram 63.713 infecções prováveis, com uma taxa de incidência de 30,1 casos por 100 mil hab. (BRASIL, 2021).

A doença causada pelo vírus Zika (ZIKV) também é caracterizada por apresentar estado febril, todavia há presença de outras sintomatologias, sendo elas por exemplo, exantema, cefaleia, mal-estar, edema e dores articulares, podendo ainda atingir casos graves, como comprometimento do sistema nervoso central, como a síndrome de Guillain-Barré, mielite transversa, meningite e microcefalia em recém-nascidos (VASCONCELOS, 2015). No ano de 2022, até a semana epidemiológica 22, foram notificados 5.699 casos prováveis, correspondente a uma taxa de incidência de 2,7 caso por 100 mil hab., sendo comparado com os anos de 2019 e 2021, ocorreu um aumento de 14,4% e 118,9% no número de casos, respectivamente (BRASIL, 2022). No Brasil, a forma mais comum de combate ao *Aedes aegypti*, se faz pela utilização de produtos químicos que apresentam ação larvicida, em sua maioria, são piretróides, fosforados e os organoclorados, que conseqüentemente durante anos de uso, causou resistência nas populações dos mosquitos, além de impactos ambientais (LIMA *et al.*, 2003). Também são adotadas medidas de prevenção, sendo elas: evitar água parada em pequenos objetos, pneus, garrafas e vasos de planta; manter a caixa d'água sempre fechada e realizar limpezas periódicas; vedar poços e cisternas; descartar o lixo de forma adequada (BRASIL, 2021). Em 2020, com o início da pandemia da covid-19, o mundo viveu algo nunca visto, e assim, a atenção em saúde ficaram voltadas ao novo coronavírus. Dessa forma, as atividades de controle, como visita dos agentes comunitários nas residências foram suspensas e há relatos dos altos níveis de infestação vetorial pelo *Aedes aegypti*. Com tudo, esses fatores favorecem a transmissão, não apenas de dengue, mas também da chikungunya e Zika (SBTM, 2022).

Diante das problemáticas causadas pelo *Aedes aegypti*, o surto ocasionado pelo Zika, levantou questões éticas no âmbito da ciência, principalmente em relação a utilização apropriada de produtos químicos e os possíveis riscos de desenvolver

populações de mosquitos geneticamente modificados, com o objetivo de impedir a transmissão (LESSER; KITRON, 2016). Por esta razão, com o crescimento dessas arboviroses no Brasil, se faz necessário a descoberta de novos compostos bioativos de origem natural, que possam ser eficazes e seguros no combate do *Aedes aegypti*. A utilização de plantas para tratar e controlar doenças podem ser rastreadas desde os primórdios da civilização. Essa prática se tornou rotineira em diferentes comunidades, mas também em indústrias farmacêuticas e agrícolas. Dessa maneira, se faz importante a procura de compostos ativos em espécies vegetais com atividades farmacológicas (MAY, 2011). Além disso, estudos evidenciam que algumas substâncias de origem vegetal são alternativas promissoras ao controle de vetores, pelo fato de apresentarem propriedades inseticidas, produzidas naturalmente pelo vegetal, como forma de defesa a alguns patógenos (SIMAS *et al.*, 2004). Em relação as questões ambientais, a procura por inseticidas de origem natural vem crescendo fortemente, pelo fato de serem bem mais seguros do que os sintéticos (FERREIRA; CORRÊA; VIEIRA, 2001).

Considerando a importância do controle das enfermidades causadas pelo *Aedes aegypti*, a pesquisa de compostos naturais para atuarem ao combate do vetor se fazem necessárias, por conseguinte este trabalho tem como principal objetivo avaliar o potencial toxicológico dos subprodutos dos rizomas da *Curcuma longa* L sobre *Aedes aegypti* e *Mus musculus*.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial toxicológico dos subprodutos dos rizomas da *Curcuma longa* L sobre *Aedes aegypti* e *Mus musculus*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar os subprodutos presentes na *Curcuma longa* L, através do novo método de extração e purificação simultânea;
- Avaliar o potencial da atividade larvicida dos compostos isolados frente ao *Aedes aegypti*;

- Avaliar a toxicidade aguda dos compostos obtidos frente ao *Mus musculus*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Curcuma longa* L.

3.1.1 Características Botânicas

A *Curcuma longa* L. é uma planta pertencente à família das Zingiberaceae, e é utilizada há muitos anos. Originária da Índia e do sudeste da Ásia, e conseqüentemente se expandiu pela América e algumas regiões da Europa (ALONSO, 1998). Essa planta foi introduzida no Brasil na década de 80 (ALMEIDA, 2006). É conhecida popularmente como: açafrão, açafrão-da-terra, açafrão-da-índia, cúrcuma, turmerico e gengibre amarelo. Apresenta como vantagem o cultivo fácil, por não necessitar de cuidados especiais, onde se desenvolvem muito bem em condições tropicais (GOVINDARAJAN; SIVAKUMAR; RAJESWARI; YOGALAKSHMI, 1980). No Brasil, a cúrcuma se adaptou de forma positiva e é cultivada principalmente nos estados de São Paulo, Goiás e Mato Grosso (CECÍLIO FILHO, 1996).

Figura 1 - *Curcuma longa* L. (Açafrão da Terra)



Fonte: Próprio Autor.

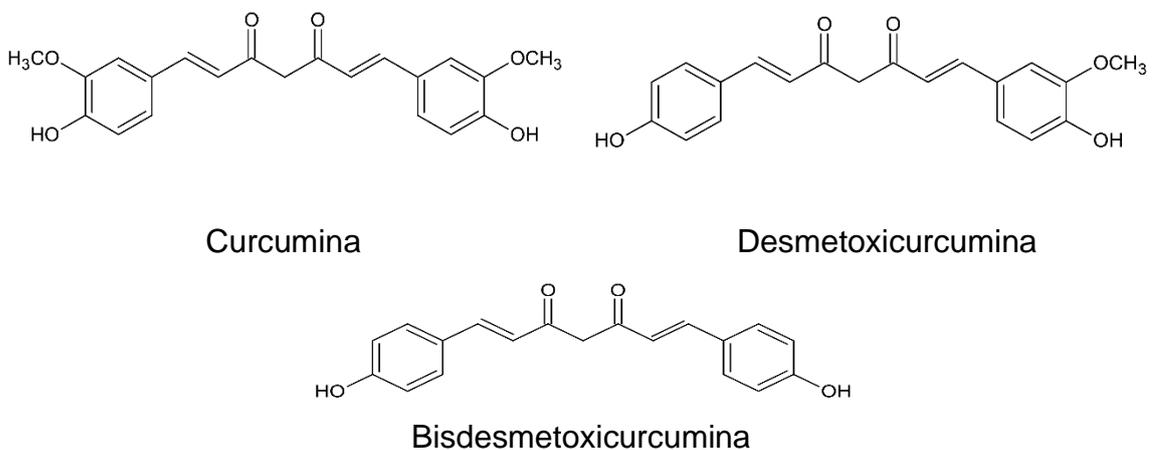
É considerada uma planta do tipo herbácea, perene, com folhas grandes e longas, possuindo rizomas ovoides que podem chegar à 10 cm de comprimento (LORENZI; MATOS, 2008). Em condições favoráveis de clima e solo, a cúrcuma pode atingir em média 120 a 150 centímetros de altura (HERTWIG, 1986). Morfologicamente é caracterizada como uma erva aromática pequena, contendo em sua estrutura um rizoma principal com diversas ramificações menores, onde todas

elas são marcadas com anéis de brácteas secas. Seu rizoma, quando cortados, apresentam uma superfície de coloração vermelha alaranjada, que essa cor se deve a presença da curcumina (GRANDI, 2014; MATOS, 2000). Suas folhas são grandes, oblongo lanceoladas e oblíquo-nervadas, quando amassadas dispersam um odor agradável. Seus pecíolos são tão compridos quanto os limbos, que quando unidos em sua base, formam-se o chamado pseudocaule (HERTWIG, 1986).

3.1.2 Composição Química

A composição química da *Curcuma longa* L pode sofrer influências e alterações, ocasionadas pela matriz da planta, condições do solo, clima, sistema hídrico, adubação, colheita, armazenagem e transporte (FERREIRA, 2014). Sua constituição química apresenta óleos essenciais, que são ricos em sesquiterpenos oxigenados, sendo esse responsável pela característica pungente da planta. Possui três pigmentos curcuminóides: curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina (figura 2), presentes no rizoma em concentrações diferentes, entretanto tendo a curcumina como principal substância ativa (60 a 76%) (GRANDI, 2014). Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Sua principal característica é a volatilidade, o que os diferencia dos óleos fixos (SBFGNOSIA, 2009). Os óleos essenciais têm como principais componentes a dehidroturmerona, turmerona e cetonas aromáticas, em menores quantidades (MATA *et al*, 2004).

Figura 2 - Estruturas químicas dos curcuminóides



Fonte: Próprio Autor.

Os curcuminóides aparecem em proporções variáveis nos rizomas, são semelhantes estruturalmente e pertencentes a classe de diferoluilmetano (C₂₁H₂₀O₆). Seu pigmento curcumina, contém em sua estrutura dois grupos metoxila (OCH₃), enquanto a desmetoxicurcumina apresenta apenas um grupo OCH₃ e a bisdesmetoxicurcumina apresenta nenhum (MARTINS; RUSIG, 1992).

3.1.3 Propriedades farmacológicas

A *Curcuma longa* L. apresenta diversas propriedades medicinais relevantes, que são capazes de atuarem com eficácia em uma diversidade de ações como, anti-inflamatório (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009; KUPTNIRATSAIKUL *et al.*, 2014; DAILY; YANG; PARK, 2016; ARAUJO, 2015), antidiarreica, diurética, antiescorbútica, antiespasmódica, hepatoprotetora (GRANDI, 2014), antioxidante e neuroprotetora (KIM; KIM; YANG, 2014), anticonvulsivantes, atividade em Sistema Nervoso Central (ALONSO, 2016), antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009), antiartrítico (ALMEIDA, 2006), anti-HIV, antiparasitário, inibidor da carcinogênese (ARAUJO; LEON, 2001), dentre outras.

Dessa maneira, é notório que a *Curcuma longa* L. apresenta diversas ações farmacológicas, portanto, é uma planta de interesse científico, para o descobrimento de novas propriedades promissoras.

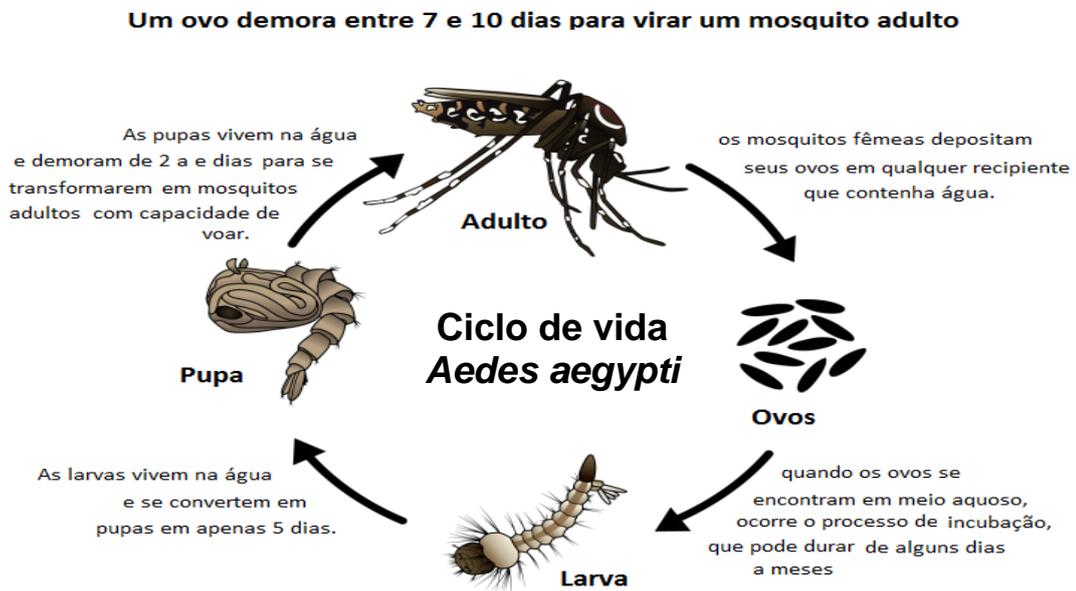
3.2 *Aedes aegypti* E AS ARBOVIROSES

O *Aedes aegypti* (Linnaeus) é um vetor responsável por transmitir as arboviroses, dengue (DENV), chikungunya (CHIKV), Zika (ZIKV) e febre amarela urbana. O mosquito pertence à família Culicidae, sendo originário do Egito, onde acompanhou o ser humano em sua longa jornada e migração pelo mundo, permanecendo em lugares onde suas alterações antrópicas propiciavam a sua proliferação. É um mosquito considerado cosmopolita, incidente nas regiões tropicais e subtropicais (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). No Brasil, o *Aedes aegypti* foi introduzido durante o período colonial, provavelmente na época do tráfico de escravos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994). É um mosquito doméstico, apresenta atividade hematofágica diurna e para proliferar seus ovos, geralmente utilizam depósitos de

água limpa (TAUIL, 2002). É pequeno em relação aos outros, tem cor preta contendo listras brancas em seu tronco, cabeça e pernas. A alimentação dos machos, é exclusivamente por frutas, entretanto as fêmeas da espécie alimentam-se de sangue para realizar o amadurecimento dos ovos, que serão depositados em superfícies da parede de objetos que contenham água limpa (SESA, 2021).

O *Aedes aegypti* possui um ciclo de vida composto por quatro fases: ovo, larva, pupa e adulto. Seu ciclo de vida tem em média 40 dias, necessitando 7 a 10 dias para ocorrer a transformação do ovo em mosquito adulto e 30 dias até morrer. Porém, esse ciclo pode ser acelerado por conta do aumento da temperatura, por isso mais ovos eclodem no verão e assim resultando em um número maior de mosquitos nesse período. A fêmea de *Aedes aegypti*, podem produzir mil ovos durante a vida e dessa maneira distribuí-los em criadouros, estratégia essa usada para possibilitar a dispersão dos ovos e a preservação da espécie. Esses ovos, podem resistir até 450 dias em ambientes secos, sobrevivendo e esperando o próximo período chuvoso (LORENZ; BREVIGLIERI; VIRGINIO, 2018).

Figura 3 - Ciclo de vida do *Aedes aegypti*



Fonte: IOC/Fiocruz e CDC.

O Brasil, é um país que fornece condições socioambientais ideais para a proliferação de *Aedes aegypti*. Além disso, com o crescimento da urbanização, porém sem planejamento e desordenada, deu origem a um ambiente rico em deficiências estruturais. A falta de um bom saneamento básico, também contribui formação de criadouros de *Aedes aegypti* (BRADBURY, 2011). Diante disso, nota-se o

aparecimento desenfreado das arboviroses que acometem a população brasileira, tornando-se então um problema de saúde pública.

3.2.1 Dengue

É considerada uma doença febril aguda, com etiologia viral e apresenta evolução benigna (forma clássica) e grave (forma hemorrágica). Sua transmissão é feita através da picada de fêmeas de mosquitos infectados pela espécie *Aedes aegypti*. Possui quatro tipos de sorotipos do vírus que causa a doença (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), cujo agente etiológico é o vírus do gênero *Flavivirus* (MSF, 2021). Atualmente, esses sorotipos circulam no Brasil tendo-se a ocorrência de epidemias, ocasionadas devido a introdução de novos sorotipos em áreas não atingidas anteriormente pelo vírus ou até mesmo pela alteração do sorotipo predominante (MSF, 2021). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, é estimado que aproximadamente 4 bilhões de pessoas estejam vivendo em áreas com risco de adquirir a infecção. Além do mais, é registrado anualmente, cerca de 390 milhões no mundo, nos quais 96 milhões se manifestam clinicamente (MSF, 2021).

No ano de 2022 até abril, o Brasil apresentou um aumento de 113,7% nos casos prováveis da doença, em relação ao ano passado. De acordo, com o ministério da saúde, foram contabilizados 542.038 casos prováveis, entre o período de 2 de janeiro e 23 de abril de 2022. Esse número já é efetivamente o mesmo que foi registrado para todo o ano de 2021, quando foram registrados 544 mil casos prováveis de dengue (EBC, 2022). Segundo o boletim epidemiológico até a semana epidemiológica (SE) 22 de 2022, foram registrados cerca de 1.104.742 casos prováveis de dengue, tendo-se uma taxa de incidência de 517,9 casos por 100 mil hab. no Brasil. Levando, em comparação ao ano de 2019, houve uma redução de 8,4% de casos registrados para o mesmo período. Em relação ao ano de 2021, registrou-se um aumento de 197,9% casos até a respectiva semana. Para a temporada de 2022, a região que apresentou maior incidência de dengue, com 1.544,2 casos/100 mil hab. foi a Região Centro-oeste, em seguida das Regiões: Sul (941,7 casos/100 mil hab.), Sudeste (419,2 casos/100 mil hab.), Nordeste (250,5 casos/100 mil hab.) e Norte (212,8 casos/100 mil hab.) (BRASIL, 2022). Em Pernambuco, nos primeiros quatro meses de 2022, houve um aumento de 45,9% nas

notificações de casos suspeitos de pessoas com doenças transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, onde cerca 39,3% dos casos eram dengues (GLOBO, 2022).

Como citado anteriormente, a dengue pode causar manifestações clínicas benignas (Dengue clássica) ou graves (Febre Hemorrágica da Dengue (FHD)). A dengue clássica, é caracterizada pelo início súbito de febre alta (39° a 40°C), seguida de dor de cabeça ou nos olhos, cansaço ou dores musculares e ósseas, falta de apetite, tonteados, vômitos, náuseas, e erupções na pele (FIOCRUZ MINAS, 2021). Já a sua forma grave, que é a FHD tem seus sintomas iniciais semelhantes aos da dengue clássica, mas a diferença é que quando a febre diminui, entre o 3º-4º dia surgem hemorragias, por causa de sangramentos de vasos na pele e em órgãos internos, e o quadro clínico se agrava rapidamente, apresentando sinais de insuficiência circulatória (EINSTEIN, 2020). Entre os anos de 2008 à 2017, foram registradas 29.291 internações e 2.895 mortes por febre hemorrágica (PONTES *et al.*, 2020).

Durante os anos de 2008 a 2017, foram registradas 2.895 mortes por febre hemorrágica e o número de internações foi de 29.291. Quanto ao sexo observou-se maior predominância em mulheres, na região Sudeste. Em relação a faixa etária dos pacientes internados no decorrer do período estudado, a idade mais acometida foi de 5 à 9 anos e a com menor número foi de 80 anos (PONTES *et al.*, 2020).

3.2.2 Chikungunya

Desde o ano de 2014, o Brasil começou a conviver com a segunda doença transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*, a chikungunya. É uma doença causada pelo vírus chikungunya (CHIKV), da família Togaviridae e do gênero Alphavirus, que foi isolado pela primeira vez no continente africano em Newala, Tanzânia (ROSS, 1956). Seu nome deriva de uma palavra em Makonde, que significa “aqueles que se doíam”, fazendo referência a aparência encurvada de pessoas que sofrem com a artralgia característica (BRASIL, 2017). Em 2016, registrou-se 265.554 casos de chikungunya, que representaram um aumento de cerca de 589,7% em relação aos 38.499 casos registrados no ano de 2015. A incidência no Brasil no mesmo ano, foi de 129,9 casos por 100 mil habitantes, tendo a maior incidência na região Nordeste, com 407,7 casos por 100 mil habitantes (GLOBO, 2017).

No Brasil, em 2021 ocorreram 63.713 infecções prováveis, com uma taxa de incidência de 30,1 casos por 100 mil hab. (BRASIL, 2021). Atualmente, até SE 22 de 2022, havia 108.730 casos prováveis de Chikungunya (taxa de incidência de 51 casos por 100.000 habitantes) no Brasil. Em relação a 2019, o número de casos registrados no mesmo período aumentou 35,2 %. Comparado a 2021, houve um crescimento de 95,7% casos até a respectiva semana. A Região Nordeste, obteve a maior incidência de casos prováveis (156,1 casos/100 mil hab.) para o ano de 2022 (BRASIL, 2022). No estado de Pernambuco, nos quatro primeiros meses de 2022, registrou-se um crescimento de 77,2% dos casos suspeitos de chikungunya (GLOBO, 2022). No ano de 2022, saiu o resultado do ensaio clínico de fase 3 da vacina contra a chikungunya (VLA1553), desenvolvida em parceria entre o Instituto Butantan e a empresa de biotecnologia franco-austríaca Valneva, mostraram que a imunogenicidade alcançada após a vacinação permaneceu por ao menos seis meses, com manutenção da produção de anticorpos durante esse período em 96,3% dos indivíduos avaliados (BUTANTAN, 2022).

As manifestações clínicas da chikungunya são bem semelhantes ao da dengue, porém o que difere desta, e tem como principal manifestação são as fortes dores nas articulações, que geralmente são acompanhadas por edema. Depois da fase inicial, a doença pode evoluir para duas etapas subsequentes, que são elas, a fase subaguda e fase crônica. Além disso, a doença possui um caráter epidêmico, apresentando uma elevada taxa de morbidade, que é associada à artralgia persistente, ocasionando uma redução da produtividade e da qualidade de vida (BRASIL, 2017).

3.2.3 Zika

No ano de 2015, foi identificado no Brasil mais um arbovírus transmitida pelo *Aedes aegypti*, o chamado Zika vírus (ZIKV). Onde em 2016, o país registrava 214.193 casos registrados, com uma taxa de incidência de 104,8 casos por 100 mil habitantes (GLOBO, 2017). A doença causada pelo vírus Zika possui um risco superior em comparação as outras arboviroses, em relação ao desenvolvimento de complicações neurológicas, como encefalites, Síndrome de Guillain Barré e outras doenças neurológicas. Além disso, possui como principal complicação a microcefalia (BRASIL, 2021). Em novembro de 2015, o surto de microcefalia assustou o país, sendo

decretado estado de emergência, os maiores números de casos foram registrados no Nordeste e Sudeste (GLOBO, 2015).

No ano de 2020, o Brasil apresentou 10.768 casos prováveis notificados de Zika, com uma taxa de incidência 5,1 casos por 100 mil habitantes, além disso, o Nordeste apontou a maior incidência, correspondendo a 9,5 casos/100 mil habitantes (BRASIL, 2020). Atualmente, foram notificados 5.699 casos prováveis até a SE 22 de 2022, sendo correspondente a taxa de incidência de 2,7 caso por 100 mil hab., sendo comparado com os anos de 2019 e 2021, ocorreu um aumento de 14,4% e 118,9% no número de casos, respectivamente (BRASIL, 2022).

O zika é uma infecção, assim como a dengue, que pode ser assintomática ou evoluir para um quadro clínico variável, desde manifestações brandas e autolimitadas até complicações neurológicas e malformações congênitas. As manifestações mais comuns são: exantema maculopapular, febre, artralgia, conjuntivite não purulenta, cefaleia, mialgia e prurido, esses sintomas geralmente duram de 2 a 7 dias (BRASIL, 2017).

3.2.4 Febre amarela urbana

Doença febril aguda, podendo levar à morte em cerca de uma semana, caso não seja tratada rapidamente. Suas manifestações clínicas iniciais incluem febre de início súbito, calafrios, dor de cabeça, dores nas costas, dores no corpo em geral, náuseas e vômitos, fadiga e fraqueza. Em relação, ao seu estado grave, o indivíduo pode apresentar febre alta, icterícia, hemorragia e, eventualmente, choque e insuficiência de múltiplos órgãos. Atualmente, no Brasil a febre amarela urbana foi erradicada desde 1942 (ES, 2021).

3.3 CONTROLE DO *Aedes aegypti*

O controle das arboviroses causadas pelo *Aedes aegypti*, dependem diretamente de ações voltadas ao combate do *Aedes aegypti* (OPAS, 2020). O combate ao mosquito é baseado em três importantes componentes, sendo eles: melhorar as ações de saneamento básico, ações voltadas a educação e comunicação com a população e principalmente o combate direto ao vetor (TEIXEIRA; BARRETO; GUERRA, 1999).

Além disso, levando em consideração, que o *Aedes aegypti* tem hábitos domésticos, é de extrema importância o envolvimento das famílias e comunidades para eliminar criadouros em suas casas, principalmente naquelas que requerem o uso de tratamento químico ou biológico executado por um agente comunitário, que devem ser realizados por profissionais treinados e agentes de saúde (OPAS, 2020). Em casos de surto, se faz necessário aplicação espacial de inseticidas, com o propósito de eliminar de forma rápida as populações de mosquitos adultos e assim reduzir a transmissão da dengue, chikungunya e zika sendo recomendados inseticidas pré-qualificados pela OMS (OPAS, 2020).

Entre os inseticidas mais utilizados, destacam-se os organofosforados, carbamatos e piretróides. Esses inseticidas químicos foram escolhidos devido à sua atividade biológica forte, o que os confere uma relativa instabilidade ao meio ambiente (PADILHA; WILSON; BUSHNELL, 1994). O uso contínuo dos inseticidas, promove resistência dos mosquitos, esse processo acontece pelo fato que os inseticidas matam os indivíduos suscetíveis, porém de certo modo seleciona aqueles que são resistentes às dosagens aplicadas. Tendo assim, a reprodução de cepas resistentes (LIMA *et al.*, 2003). Pesquisadores do Butantam, desde 2009, estudam a produção de uma vacina contra o vírus da dengue. Os ensaios clínicos se encontram em andamento na fase três e a previsão é que a pesquisa seja finalizada até o ano de 2024 (BUTANTAM, 2021).

Por essa razão, a busca por substâncias de natureza vegetal surge como alternativa promissora ao controle desse agente etiológico, pelo fato de que muitas plantas vegetais desenvolveram mecanismo de defesas na proteção de patógenos, apresentando atividade inseticida para se proteger (MELO, 2006). Sendo assim, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos na busca de novos larvicidas, e muito tem foco nas bioatividades dos óleos essenciais, por possuírem uma mistura de metabólitos secundários (VILA *et al.*, 2010; GOVINDARAJAN; SIVAKUMAR.; RAJESWARI; YOGALAKSHMI, 2012).

4. METODOLOGIA

4.1 NOVO MÉTODO DE EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO SIMULTÂNEA

Com o propósito de obter um maior rendimento dos subprodutos da *Curcuma longa* L, foi utilizado um novo método de extração, o método Góes, onde é utilizado o aparelho Góes (patente BR 10 2017 021 0995) denominado de extração e purificação simultânea. A realização desse processo, necessita do aparelho Góes, um balão de fundo redondo, um condensador, uma manta aquecedora, tubos de ensaio para coleta das amostras, tubo capilar para auxiliar na preparação de placas cromatográficas (CCD), cuba cromatográfica de vidro, placas de cromatografias, podendo ser sílica ou alumina. Antes de executar o processo de extração e purificação simultânea, é essencial e de grande importância a determinação do solvente ou o sistema de solventes que serão utilizados. Sabe-se, que um eluente ideal, é aquele que se encontra um fator de retenção (rf) na faixa de 0,3 à 0,45.

Nesse método, usa-se o aparelho Góes (figura 4), onde no interior da coluna preenche-se por uma substância adequada (1), a depender do material a ser analisado, podendo ser sílica em gel (SiO_2), alumina (Al_2O_3) dentre outras. Na parte superior, do aparelho é adicionado o material a ser investigado, podendo ser serragem de qualquer parte da planta (raiz, caule, folha) secas em pó (2). Na terceira parte do corpo do aparelho, será alimentado pelo eluente ideal encontrado (3), através do balão de fundo redondo sob aquecimento. Este processo de extração e purificação simultânea permite a obtenção da substância desejada com rendimento maior, tempo de execução menor, e economia de solventes, visto que, o espaço da coluna dedicado a receber o sistema eluente, corresponde a um terço ou mais de todo o corpo dessa vidraria, permitindo então, receber uma maior quantidade do eluente antes da substituição de cada balão contendo as amostras, economizando assim solventes no processo (SILVA, 2019).

Figura 4 - Aparelho Góes. Divisão do corpo da coluna



Fonte: Silva, 2019.

Dessa maneira, para a obter os subprodutos dos rizomas da *Curcuma longa* L, o sistema passou por aquecimento numa temperatura de aproximadamente 65°C,

suficiente para alimentar a coluna por um período de 6 horas. No interior do corpo da coluna, foi preenchido em parte por 50,0 g de sílica em gel como adsorvente apropriado e logo em seguida adicionado 350 g do rizoma triturado da *Curcuma longa* L. Inicialmente, foi vertido 150 mL de hexano, pelo qual foram coletadas duas frações. Em seguida, foi adicionado o sistema hexano/acetato de etila 8:2 (v/v), e coletado mais duas frações. Dentre as frações coletadas, a 1 e 2, foram reunidas após comparadas em cromatografia em camada delgada (CCD), obtendo-se um composto alaranjado de aspecto oleoso (6,47g;1,84%), e a fração 3 e 4 com a curcumina pura, um sólido laranja (3,91 g; 1,18%).

4.2 ANÁLISES DAS COMPOSIÇÕES QUÍMICAS DOS EXTRATOS

4.2.1 Preparo do extrato por decocção sob refluxo

O extrato foi realizado pelo método de decocção sob refluxo, na temperatura de 80 ± 5 °C. Foram pesados 5g de droga vegetal, que foram transferidos para balão de fundo redondo de 250 mL, foram adicionados 100 mL de etanol, o balão foi acoplado ao condensador e a extração ocorreu durante 1 hora. Posteriormente, o extrato foi filtrado e seco em banho-maria.

4.2.2 Método cromatográfico

Um cromatógrafo (Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific ®) acoplado a um detector de arranjo de fotodiodos (DAD - 3000 (RS), Thermo Fisher Scientific ®), coluna C 18 (250 mm x 4,6 mm id, tamanho de partícula 5 µm, NST ®) e Pré-coluna C 18 (4 mm x 3,9 µm, Phenomenex ®). As soluções extrativas em metanol, filtrados por filtros de seringa de 0,45 µm (Macherey-Nagel ®) e eluídos em uma fase móvel composta por uma mistura de água ultrapura (A) e metanol de grau HPLC (B), ambos acidificados a 0,05% (v/v) com ácido trifluoroacético.

Para a eluição, foi utilizado um sistema de gradiente da seguinte forma: 0-5min, 20-60% de B; 5-15 minutos, 60-80% de B; 15-25 minutos, 80-100% de B; 25-30 min, 100-20% de B; 30-33 min, 20% B. O fluxo da fase móvel foi de 1,0 mL/min a uma temperatura de 24 ± 1 °C. Os comprimentos de onda de 210, 254, 280 e 430 nm foram

selecionados de acordo com a absorção máxima verificada pelo detector. O software Chromeleon (Thermo Fisher Scientific ®) foi utilizado para análise e processamento dos dados. O teor de curcumina foi calculado a partir da curva de calibração construída com o padrão de curcumina.

4.2.3 Preparo das amostras

Para ambos os extratos foi pesado 1 mg do extrato seco que foi dissolvido em etanol para balão volumétrico de 5 mL, e levado ao banho de ultrassom durante 3 minutos (obtendo solução de concentração igual a 200mcg/mL). Em seguida, 2,5 mL desta solução foi diluída em metanol para balão volumétrico de 5 mL (obtendo solução de concentração igual a 100 mcg/mL).

Por fim, as soluções foram filtradas em filtros de seringa de 0,45 µm (25 mm, Macherey-Nagel ®). Para curva de calibração foi pesado 1mg do padrão curcumina que foi dissolvido em etanol para balão volumétrico de 5 mL e levado ao banho de ultrassom durante 3 minutos (obtendo solução de concentração igual a 200mcg/mL). Em seguida, prosseguiu-se com as diluições necessárias, utilizando metanol, para obtenção de amostras com concentração de 2, 4, 6, 8 e 10 mcg/mL. Por fim, as soluções foram filtradas em filtros de seringa de 0,45 µm (25 mm, Macherey-Nagel ®).

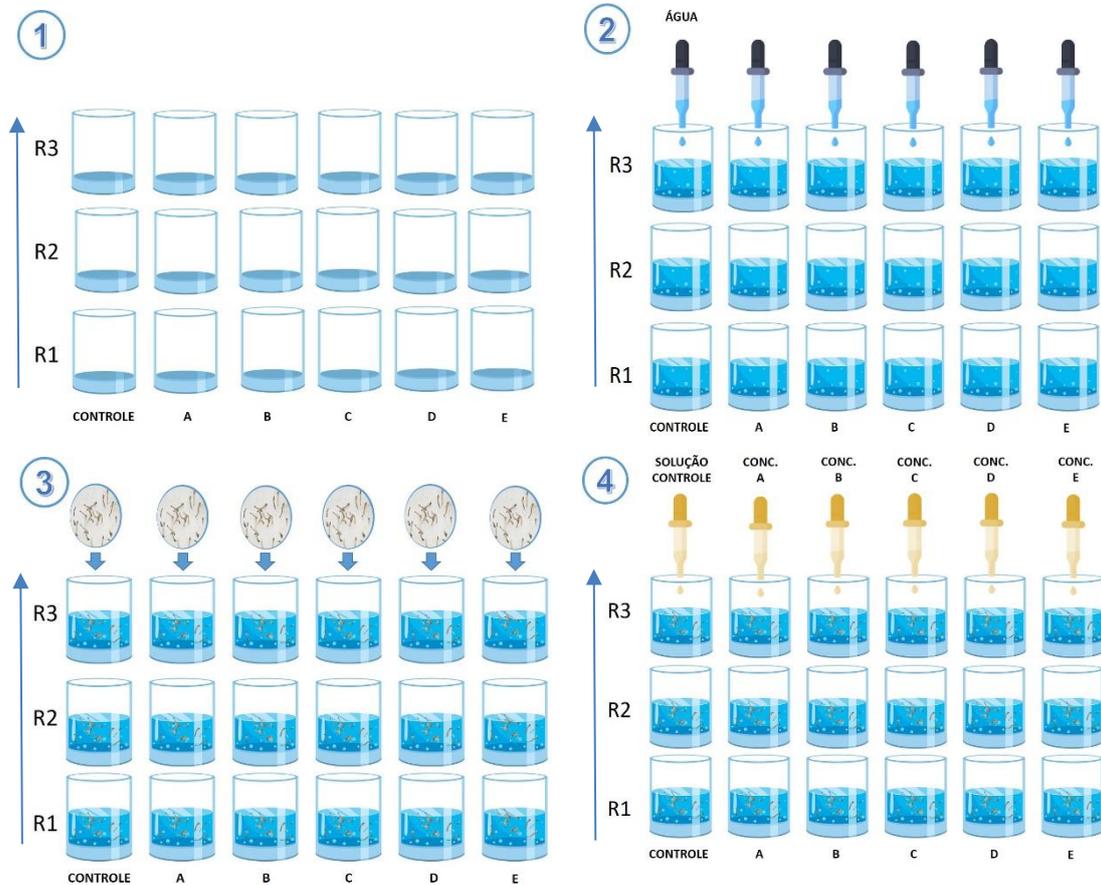
4.3 ENSAIOS INSETICIDAS

4.3.1 Avaliação da atividade larvicida

Para a realização dos ensaios larvicidas foram utilizadas larvas de *Aedes aegypti*, do terceiro e quarto instar e uniformemente selecionadas. As larvas foram oriundas de uma colônia de segunda geração (F2), estabelecida no Laboratório de Pesquisa de Toxicologia do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), a partir de ovos da linhagem *Rockefeller*, cedidos pelo insetário do Instituto Aggeu Magalhães (IAM)/Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-PE). Para realização dos ensaios inseticidas, foi utilizada a metodologia adaptada da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2005), e os experimentos foram conduzidos

em sala climatizada, com temperatura média de 27 °C, umidade média de 70% e todas as condições padrão (CRUZ et al. 2020).

Figura 5 - Esquema dos bioensaios larvicidas



Fonte: Próprio Autor.

Os ensaios larvicidas realizados, utilizaram 20 larvas por repetição, completando 60 larvas por tratamento e totalizando 360 para cada bioensaio. As larvas foram coletadas com o auxílio de pipeta Pasteur, coadas e postas em recipientes semi acrílicos (6,5 cm de altura x 5,0 cm de largura) contendo em cada recipiente 20 mL de água destilada. As larvas foram expostas aos subprodutos vegetais de *Curcuma longa* L (curcumina e óleo fixo), separadamente, preparados em diferentes concentrações (figura 5). Os subprodutos vegetais foram solubilizados, separadamente, com uma solução de polisorbato 80 (Tween 80) e água destilada, e essa mesma proporção foi utilizada para a obtenção das soluções estoques dos grupos controles. As observações da mortalidade larval foram realizadas com 1, 2, 4, 8 e 24 horas, após o início dos experimentos. Para cada subproduto vegetal, foram realizados três experimentos independentes.

4.4 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS

4.4.1 Avaliação toxicológica em *M. musculus*

O trabalho experimental realizou-se no Laboratório de Pesquisa de Toxicologia do Departamento de Antibióticos da UFPE. O protocolo de pesquisa animal estava em conformidade com as disposições da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008 e decreto n.º 6.899 de 15 de julho, 2009. As normas utilizadas foram estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimento Animal (CONCEA), onde a pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da UFPE, sendo registrada e aprovada sob o nº0078/2021.

A toxicidade aguda e a Dose Letal 50 (DL₅₀) foram determinadas de acordo com as diretrizes da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD 423/2001), usando os guias de classificação toxicológica. Os bioensaios foram realizados separadamente, utilizando o óleo fixo e a curcumina, extraídos dos rizomas de *Curcuma longa* L. Para cada amostra, foram utilizados três camundongos fêmeas Swiss albino (*Mus musculus*), e três animais para o grupo controle. Foram utilizados animais pesando entre 25 e 28 g e com idade aproximada de 60 dias.

As diretrizes determinam iniciar os bioensaios com as soluções dos subprodutos preparados na dose máxima, preconizada de 2000 mg kg⁻¹, caso não haja mortalidade ou sinais clínicos intensos nos animais, recomenda-se a não utilização das demais doses (300, 50 e 5 mg kg⁻¹), mas indica a repetição da dose inicial utilizada. Dessa forma, o primeiro grupo de animais, de cada subproduto foi administrado oralmente (gavagem) com a dose de 2000 mg kg⁻¹ da amostra, o segundo grupo foi administrado com a mesma dose de 2000 mg kg⁻¹ da mesma amostra, porém em dias diferentes. Os animais do grupo controle receberam pela via oral apenas solução estoque, isento de amostras botânicas, possuindo apenas polisorbato 80 (Tween 80) e água destilada. Cada grupo de animais ficou mantido separado em gaiolas de polipropileno, em condições de iluminação controlada com fotoperíodo de 12 horas, temperatura de 22 ± 2 °C e umidade entre 50 e 55%. A alimentação padrão para roedores foi suspensa por quatro horas antes dos experimentos e retornada três horas após os bioensaios, enquanto a água se manteve disponível *ad libitum*.

As respostas comportamentais manifestadas pelos camundongos, incluindo os sinais clínicos estimulantes e depressores relacionados ao Sistema Nervoso Central, bem como os efeitos relacionados ao Sistema Nervoso Autônomo foram avaliados. Essas respostas foram observadas individualmente durante 60 min após as administrações dos subprodutos vegetais. Além disso, os camundongos foram observados e pesados a cada 24 horas durante 14 dias.

4.4.2 Análises histológicas, hematológicas e bioquímicas

Após 15 dias do início da toxicidade aguda dos subprodutos obtidos dos rizomas de *Curcuma longa* L, os camundongos foram sacrificados e o tecido sanguíneo de cada animal foi coletado e armazenado em dois tubos: um contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e outro sem. Os órgãos removidos (fígado, rins, pulmões e baço) foram pesados e submetidos às análises histológicas.

Para as análises hematológicas, um analisador automático e microscopia de luz foram utilizados para avaliar diferentes parâmetros hematológicos (número de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, corpuscular média hemoglobina, concentração de hemoglobina, massa corpuscular, e análise de leucócitos).

Em relação às análises bioquímicas, as amostras de sangue foram avaliadas quanto aos parâmetros de albumina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, alcalina fosfatase, gama glutamil transferase, níveis de colesterol, triglicerídeos, ureia e creatinina. Os resultados obtidos foram analisados utilizando o GraphPad PRISM® através da análise de variância (ANOVA) ou regressão linear, onde valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4.4.3. Análise estatística

Os percentuais de mortalidade de larvas e adultos derivados da avaliação inseticida foram submetidos ao teste de *Tukey*, ao nível de 5% de probabilidade. A análise de regressão Probit foi usada para determinar os valores das concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}). O intervalo de confiança de 95% foi usado para comparar as CLs.

Em relação à avaliação toxicológica dos camundongos, a relação entre o peso corporal e o tempo de exposição foi obtida por meio de uma análise de regressão linear. A associação entre o peso dos camundongos e o período de observação foi avaliada pelo cálculo do coeficiente de correlação de Pearson. Efeitos significativos foram identificados pelo teste t de *Student* a uma probabilidade de 5%.

Os resultados obtidos foram analisados utilizando o GraphPad PRISM® através da análise de variância (ANOVA) ou regressão linear, onde valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES DAS COMPOSIÇÕES QUÍMICAS DO EXTRATO

Os constituintes químicos dos extratos obtidos a partir da extração por sohxlet e decocção sob refluxo foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção DAD (CLAE-DAD).

Curva analítica do padrão curcumina

A curva analítica obtida para o padrão curcumina, utilizando cinco níveis de concentração, foi linear na faixa de concentração de 2 a 10 µg/mL. Os dados brutos de área dos picos estão dispostos na tabela 1, e a curva analítica da média das áreas pode ser observada na figura 6.

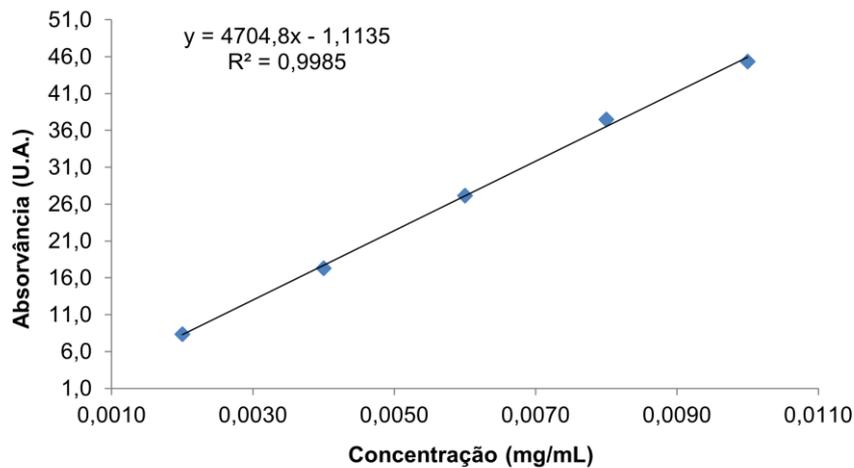
Tabela 1 - Áreas obtidas para os picos da curva analítica da curcumina.

Concentração (µg/mL)	Área 1	Área 2	Área 3	Média ± DP(DPR%)
2,0	8,4884	8,2722	8,3525	8,37 ± 0,10 (1,31)
4,0	17,2574	18,4552	18,2368	17,98 ± 0,63 (3,50)
6,0	27,1741	27,1022	27,1022	27,12 ± 0,04 (0,15)
8,0	37,5906	37,3660	37,3660	37,44 ± 0,12 (0,35)
10,0	45,2315	45,4014	45,4014	45,34 ± 0,09 (0,22)

Onde: DP: Desvio padrão; DPR: Desvio padrão relativo (%).

Fonte: Próprio autor.

Figura 6 - Curva analítica média para o padrão curcumina.



Fonte: Próprio autor.

A avaliação da regressão linear demonstrou um alto coeficiente de determinação, com valor de 0,9987, indicando que quase 100% da variabilidade é explicada pela regressão. Foi realizada uma análise de variância a fim de avaliar a significância da regressão, o resultado indicou que a regressão é altamente significativa, com 95% de confiança ($F = 661,557$). Os resíduos apresentaram distribuição aleatória ao redor de zero, representando um comportamento homoscedástico, como preconizado, apresentando, no teste de Cochran, C calculado (0,339) menor que o C crítico (0,684). O coeficiente angular foi estatisticamente diferente de zero, com confiança de 95% ($p > 0,05$), indicando que a variação da concentração do analito causa uma variação significativa na resposta (ANVISA, 2017; MARSON *et al.*, 2020; NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). A equação da reta obtida foi utilizada no cálculo de teor de curcumina na amostra.

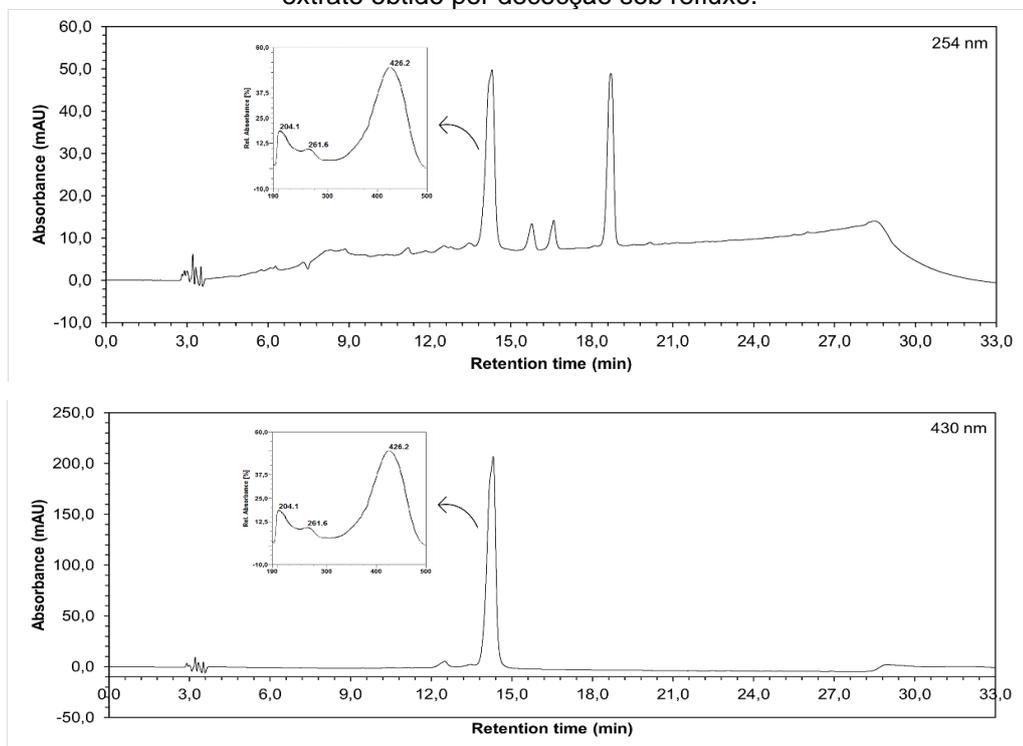
Análise dos extratos por CLAE-DAD

O perfil cromatográfico dos extratos obtidos foi realizado por CLAE, com detecção em DAD, técnica amplamente utilizada na qualificação e quantificação de extratos vegetais (BEZERRA; RAMOS; FERREIRA; SOARES, 2018; TISTAERT; DEJAEGER; VANDER HEYDEN, 2011). O perfil encontrado para o extrato obtido por decocção sob refluxo está demonstrado na figura 7, e o perfil cromatográfico do extrato obtido por sohxlet está apresentado na figura 8. Ambos os extratos apresentaram perfis semelhantes nos dois comprimentos de onda, com 4 picos

cromatográficos em 254 nm ($t_R = 14,30; 15,77; 16,59$ e $18,71$ min) e 1 pico cromatográfico em 430 nm ($t_R = 14,30$ min). O pico com tempo de retenção de 14,30 min corresponde a substância curcumina, visto que apresenta o mesmo tempo de retenção e espectro de absorção do padrão analisado, como pode ser observado na figura 9. A presença de curcuminoides, incluindo a curcumina, em extratos de espécies do gênero *Curcuma* é amplamente descrita na literatura, sendo estas substâncias as responsáveis pela intensa coloração amarela dos rizomas das espécies do gênero (CHEN *et al.*, 2019; DALL'ACQUA *et al.*, 2016; GIRME *et al.*, 2020; YE *et al.*, 2022).

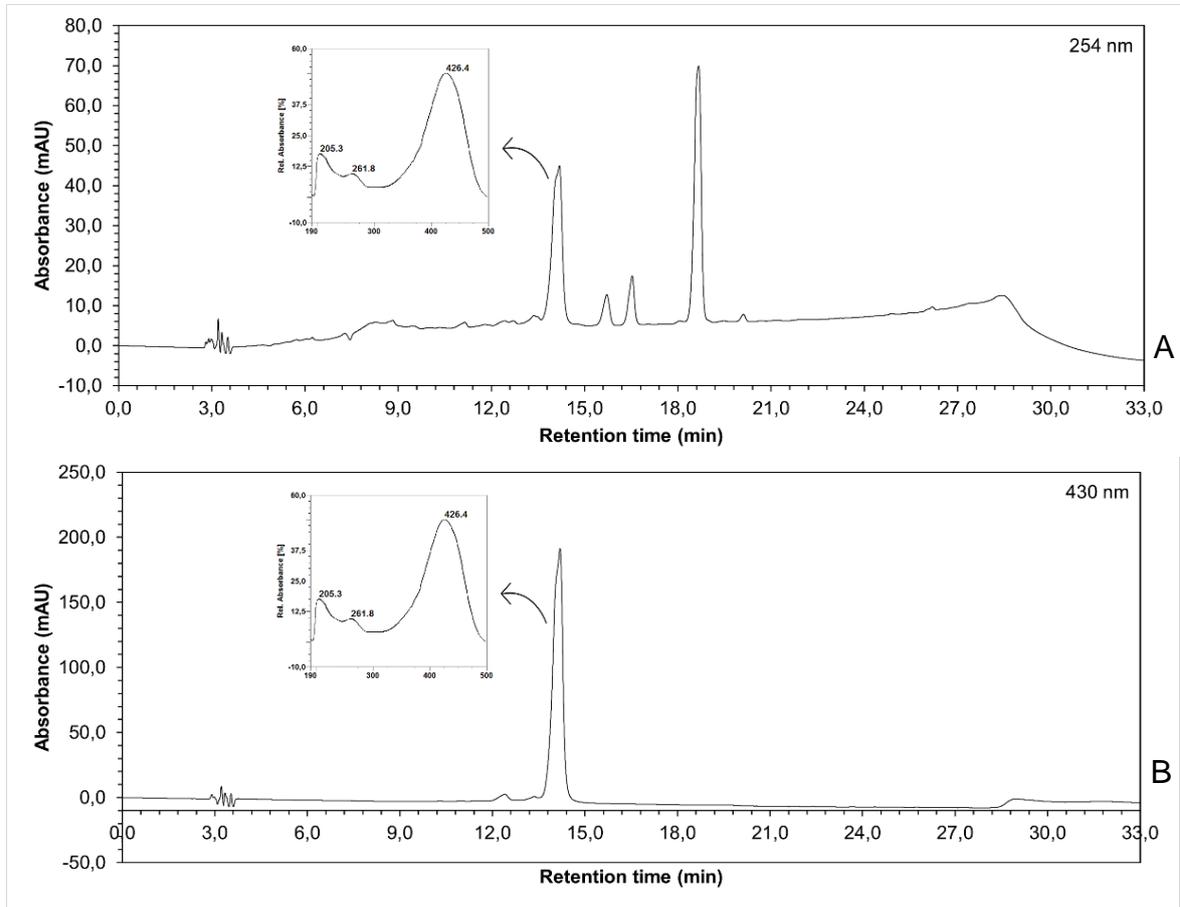
A quantificação da curcumina nos extratos foi realizada a partir da equação da reta obtida na curva analítica do padrão. O extrato obtido por decocção sob refluxo apresentou teor de $16,077 \pm 0,04$ g% de curcumina, já o extrato obtido por sohxlet demonstrou teor de $14,791 \pm 0,68$ g% de curcumina, indicando que a extração por decocção foi ligeiramente mais eficaz em extrair a curcumina dos rizomas.

Figura 7- Perfil cromatográfico por CLAE, nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 430 nm (B), do extrato obtido por decocção sob refluxo.



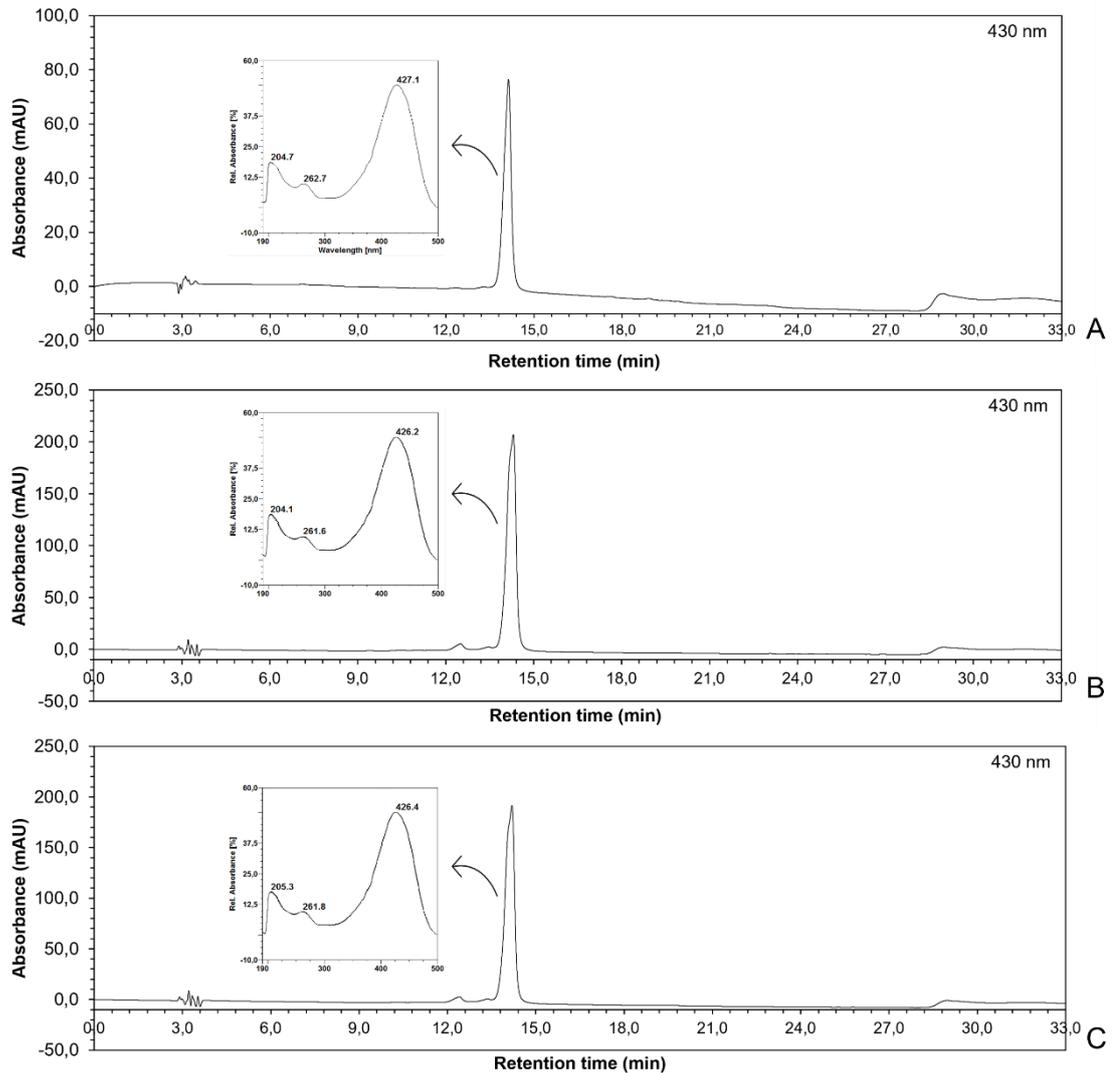
Fonte: Próprio Autor.

Figura 8 - Perfil cromatográfico por CLAE, nos comprimentos de onda de 254 nm (A) e 430 nm (B), do extrato obtido por sohxlet.



Fonte: Próprio Autor.

Figura 9 – Comparação entre os perfis cromatográficos do padrão curcumina (A) e dos extratos obtidos por decocção sob refluxo (B) e sohxlet (C), no comprimento de onda de 430 nm.



Fonte: Próprio Autor.

5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA

Dos subprodutos obtidos dos rizomas de *Curcuma longa* L, o óleo fixo demonstrou resultados bastante significativos e promissores sobre o *Aedes aegypti*. Após 16 horas de exposição das larvas, a concentração de 2.0 mg mL⁻¹, causou a mortalidade larval de 71,66%, a mesma após 24 horas, ocasionou a morte de 100% da população (tabela 2). Além disso, a concentração de 1.0 mg mL⁻¹, também se apresentou tóxicas contra as larvas, apresentando uma mortalidade larval superior a 50% após 16 horas de exposição, e em 24h, atingindo uma mortalidade larval superior

a 90%. Essas duas concentrações se mostraram mais tóxicas às larvas, quando comparadas às outras concentrações de 0.12, 0.25 e 0.5 mg mL⁻¹ (tabela 2).

Tabela 2 - Mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* nos intervalos de 1,2,4,8, 16 e 24h do óleo fixo, isolado da *Curcuma longa* L.

Concentração (mg.mL)	Tempo/Mortalidade (%)					
	1h	2h	4h	8h	16h	24h
2,0	0,00	3,89 ± 0,96	11,11 ± 2,54	38,89 ± 5,85	71,66 ± 3,35	100,00 ± 0,00
1,0	0,00	0,00	3,33 ± 0,00	26,11 ± 0,95	58,88 ± 3,85	91,67 ± 2,88
0,5	0,00	0,00	0,00	14,48 ± 3,53	35,00 ± 4,41	82,77 ± 1,92
0,25	0,00	0,00	0,00	7,22 ± 8,22	29,55 ± 25, 20	65,00 ± 3,33
0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	8,88 ± 2,54	52,22 ± 5,35
Controle	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fonte: Próprio autor.

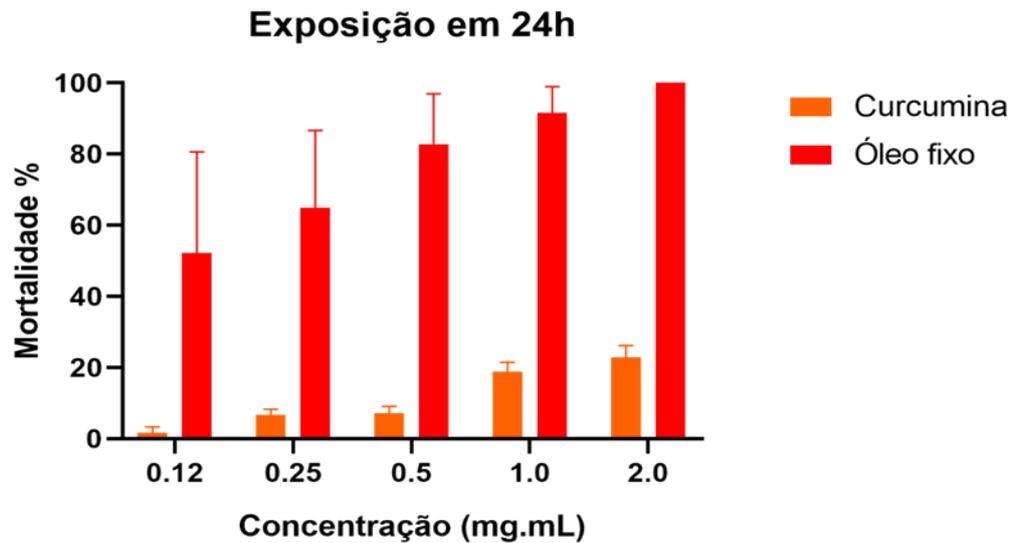
Em relação à curcumina, subproduto também obtido dos rizomas da *Curcuma longa* L, ela não apresentou atividade significativa sobre as larvas de *Aedes aegypti*, onde a sua maior concentração após 24h de exposição, ocasionou apenas 22,77% de mortalidade (tabela 3).

Tabela 3 - Mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* nos intervalos de 24h do extrato curcumina, isolado da *Curcuma longa* L

Concentração (mg.mL)	Tempo/Mortalidade (%)
	24h
2.0	22,77 ± 3,46
1.0	18,88 ± 2,54
0.5	7,22 ± 1,92
0.25	6,66 ± 2,54
0.12	1,66 ± 1,66
Controle	0,00

Fonte: Próprio Autor.

Gráfico 1 - Mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* em 24h de exposição



Fonte: Próprio Autor.

Estudos na literatura, relatam e discutem acerca das atividades larvicidas contra mosquitos vetores, utilizando o óleo essencial e extratos derivados da *Curcuma longa* L. Em muitas espécies de plantas, esses óleos voláteis são armazenados junto com os óleos fixos. (SAGNOU *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2015; DONATO *et al.*, 2017; MATIADIS *et al.*, 2021). Sagnou *et al.*, em seu estudo apresentou a eficácia da atividade larvicida da *Curcuma longa* L contra larvas do mosquito *Culex pipiens*. Em seus resultados, a curcumina demonstrou atividade larvicida, obtendo-se o valor de CL_{50-24h} de $19,07 \text{ mg/L}^{-1}$, enquanto os outros curcuminoides apresentaram $CL_{50-24h} > 150 \text{ mg/L}^{-1}$ para o *Culex pipiens* (SAGNOU *et al.*, 2012). Em relação ao *Aedes aegypti*, o LC_{50} resultou-se em $49,3 \text{ mg/L}$ e para *Anopheles quadrimaculatus* obteve o LC_{50} $32,5 \text{ mg/L}$ (SILVA *et al.*, 2015). Matiadias *et al.*, em sua pesquisa, quatro dos compostos analisados, curcumina, desmetoxicurcumina, complexo curcumina-BF 2 e um derivado monocarbonil tetrametoxi curcumina, demonstraram uma alta atividade contra o *Culex pipiens*, resultando nos valores de LC_{50-24h} de 6,0, 9,4, 5,0 e 32,5 ppm, respectivamente, enquanto em *Ae. albopictus* exibiram valores de LC_{50-24h} de 9,2, 36,0, 5,5 e 23,6 ppm, respectivamente (MATIADIS *et al.*, 2021). No nosso estudo, ao analisar o gráfico 1, pode ser observado de forma mais nítida a excelente atividade larvicida do óleo fixo sobre o *Aedes aegypti* em 24h, tendo em todas as suas concentrações mortalidade superior a 50%, na concentração de 0.12 mg mL^{-1} e 1.0 mg mL^{-1} . Enquanto na concentração de 2.0 mg mL^{-1} conseguiu atingir 100% de morte.

Dessa forma, percebe-se que sua toxicidade sob as larvas do *Aedes aegypti*, são diretamente proporcionais as suas concentrações, entretanto a curcumina, apresentou menor atividade inseticida.

Os óleos essenciais originários do rizoma da cúrcuma são constituídos por tumeronas (40,8%), mirceno (12,6%), 1,8-cineole (7,7%) e p-cimeno (3,8%), e sua toxicidade nos bioensaios larvicidas, deve-se provavelmente a combinação entre alfa tumerona e beta tumerona (PAULINO, 2016). Os resultados deste presente estudo apresentam a importância e o potencial do óleo fixo da *Curcuma longa L* como forte candidato a agente larvicida no controle do *Aedes aegypti*.

5.3 SINAIS CLÍNICOS, MORTALIDADE E ESTIMATIVA DA CATEGORIA TOXICOLÓGICA DO ÓLEO FIXO SOBRE O *M. musculus*

Dos subprodutos obtidos pelo novo método de extração e purificação simultânea, como citado anteriormente, apenas o óleo fixo obteve atividade larvicida significativa sobre o *Aedes aegypti*, dessa forma a curcumina foi descartada da avaliação toxicológica sobre o *M. musculus*.

O óleo fixo quando administrado por via oral nos camundongos possibilitou avaliar os sinais clínicos relacionados ao SNC (Sistema Nervoso Central) e SNA (Sistema Nervoso Autônomo), a taxa de mortalidade e estimar a categoria toxicológica do óleo sobre os mamíferos. Em relação aos sinais clínicos observados após a administração da dose de 2000 mg kg⁻¹, os camundongos apresentaram diversos sinais clínicos estimulantes relacionados ao SNC, tais como reação de fuga, agitação e postura em garra, sendo esses dois últimos considerados como efeitos positivos intensos. Como efeitos positivos manifestaram, postura de ataque e escalada. E como efeitos estimulantes moderados apresentaram a autolimpeza, vocalização e andar em círculo (tabela 4). Além disso, os animais apresentaram apenas um sinal depressor, que nesse caso foi o abaixamento do trem posterior. Já os sinais relacionados ao SNA, foram piloereção e defecação como efeito positivo intenso.

Os camundongos do grupo controle, também manifestaram maior frequência de sinais relacionados ao SNC, porém esse grupo não apresentou sinais depressores (tabela 4). Em relação a mortalidade, a administração do óleo fixo pela via oral, na dose de 2000 mg kg⁻¹ não ocasionou morte dos camundongos, semelhante aos animais do grupo controle (Tabela 4).

Tabela 4 - Principais reações comportamentais relacionadas à dose de 2000 mg kg⁻¹ administrada na avaliação da toxicidade aguda do óleo fixo extraído dos rizomas da *Curcuma longa* L.

Sinais Clínicos avaliados ^a	Administração oral (mg kg ⁻¹)	
	^b GC	2.000
1. Sistema nervoso central		
Parada cardiorrespiratória	-	-
Falta de coordenação motora	-	-
Refluxo	-	-
Postura estática	-	-
Taquicardia	-	-
1.1 Sinais estimulantes		
Saltos acrobáticos	-	-
Agressividade	-	-
Agitação	++	+++
Postura de ataque	-	+
Postura em garra	-	+++
Escalada	-	+
Tremores grosseiros	-	-
Reação de fuga	+	++
Exoftalmia	-	-
Expansão do pavilhão auricular	-	-
Mudança de marcha	-	-
Ambulação aumentada	-	-
Aumento da taxa respiratória	-	-
Irritabilidade	-	-
Movimento de vibrissas	+	-
Espasmos	-	-
Ereção da cauda	-	-
Vocalização	+	-
Andar em círculo	-	++
1.2 Sinais depressores		
Ataxia	-	-
Diminuição da resposta ao toque	-	-
Perda de reflexo do ouvido	-	-
Abaixamento dos traseiros	-	+
Fotofobia	-	-
Prostração	-	-
Sedação	-	-
2. Sistema nervoso autônomo		
Distensão abdominal	-	-
Cianose	-	-
Defecação	+	+++
Diarreia	+	-
Diurese	+	-
Dispneia	-	-
Edema de focinho	-	-
Piloereção	+	+
Salivação	-	-

(Continua)

Taquipnéia	-	-
Contorção	-	-
Palidez	-	-

3. Mortalidade (%)	0%	0%
---------------------------	----	----

^a Os sinais clínicos foram avaliados por 14 dias após a administração.

^b GC: Grupo controle.

Resultado negativo (-), resultado positivo (+), resultado moderado (++) e resultado positivo intenso (+++).

Fonte: Adaptado de Malone, (1977).

Através desses resultados, o óleo fixo obtido dos rizomas de *Curcuma longa* L, quando administrado oralmente na dose de 2000 mg kg⁻¹, não apresentou toxicidade significativa. Portanto, pode dizer que o óleo fixo nesta proporção se apresenta seguro quanto ao seu uso oral para mamíferos. Liju e colaboradores, em seu trabalho investigou acerca da toxicidade aguda, subcrônica e genotoxicidade do óleo essencial da *Curcuma longa* L, onde foi feita a administração aguda em dose única de até 5 g de *Curcuma longa* L por kg de peso corporal e estudo de toxicidade subcrônica por treze semanas foi feito numa administração oral diária em doses 0.1, 0.25 e 0.5g/kg b.wt. em ratos *Wistar*. Em seus resultados não houve mortalidade, sinais clínicos adversos ou alterações no peso corporal; consumo de água e alimentos durante os estudos de toxicidade aguda e subcrônica (LIJU; JEENA; KUTTAN, 2012).

5.4 PARÂMETROS AVALIADOS: CONSUMO ÁGUA, RAÇÃO E PESO CORPORAL

Os parâmetros de consumo de água, ração e peso corporal foram monitorados durante 14 dias nos animais que foi administrado 2000 mg kg⁻¹ do óleo fixo. Nota-se que houve uma variância entre os grupos analisados (tabela 5).

Tabela 5 - Consumo de água, ração e peso corporal dos camundongos do grupo controle e do grupo tratado por via oral com o óleo fixo, por 14 dias após a administração

Parâmetros avaliados	Grupo controle	Grupo óleo fixo	Grupo óleo fixo repetição
Consumo de Água (mL)	24,45 ± 2,14	22,71 ± 2,27	22,39 ± 2,30
Consumo de Ração (g)	20,67 ± 3,30	19 ± 1,61	15,27 ± 2,32
Peso corporal (g)	28,95 ± 1,04	29,17 ± 1.21	26,84 ± 1,50

Fonte: Próprio Autor.

5.5 PARÂMETROS BIOLÓGICOS

Através da tabela 6, é possível observar que os parâmetros biológicos entre o grupo controle e os grupos testados mostram-se alterados, em relação aos valores de ureia, creatinina, TGO e TGP. Já o grupo do óleo fixo em comparação a sua repetição, as diferenças entre ambos foram mínimas, tendo sua maior variação a nível dos valores de ureia.

Tabela 6 - Níveis séricos sanguíneos de transaminases (TGO e TGP), creatinina e uréia dos camundongos do grupo controle e do grupo tratado por via oral com o óleo fixo

Parâmetros Biológicos	Grupo controle	Grupo óleo fixo	Grupo óleo fixo repetição
Ureia (mg/dL ⁻¹)	35,86 ± 2,80	40,86 ± 1.20	30,66 ± 2,08
Creatinina (mg/dL ⁻¹)	0,37 ± 0,03	0,44 ± 0.09	0,46 ± 0,07
TGO (U/L ⁻¹)	68 ± 7,93	79 ± 9,53	78 ± 2
TGP (U/L ⁻¹)	64,66 ± 6,11	74,33 ± 5,13	73 ± 1

Fonte: Próprio Autor.

5.6 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Em relação aos parâmetros hematológicos é possível observar que houve estatisticamente uma variância entre o grupo controle e o grupo tratado com o óleo fixo da *curcuma longa* L, sendo que a nível biológico não é uma diferença significativa. Dessa forma, a administração de 2000 mg kg⁻¹ não é tóxica nos camundongos. Sabe-se que a cúrcuma é bastante utilizada em diversos alimentos e até mesmo em medicamentos manipulados, sendo um produto natural seguro e de baixo custo, onde diversos estudos comprovam a sua segurança, tolerabilidade e não toxicidade mesmo em doses de até 8 g por dia (WANG, KHAN, 2015; BASNET; SKALKOBASNET, 2011; GUPTA; KISMALI; AGGARWAL, 2013; KOCAADAM; ŞANLIER, 2017).

Tabela 7 - Parâmetros hematológicos sanguíneos dos camundongos do grupo controle e do grupo tratado por via oral pelo óleo fixo obtido dos rizomas da *Curcuma longa* L, após 14 dias da administração

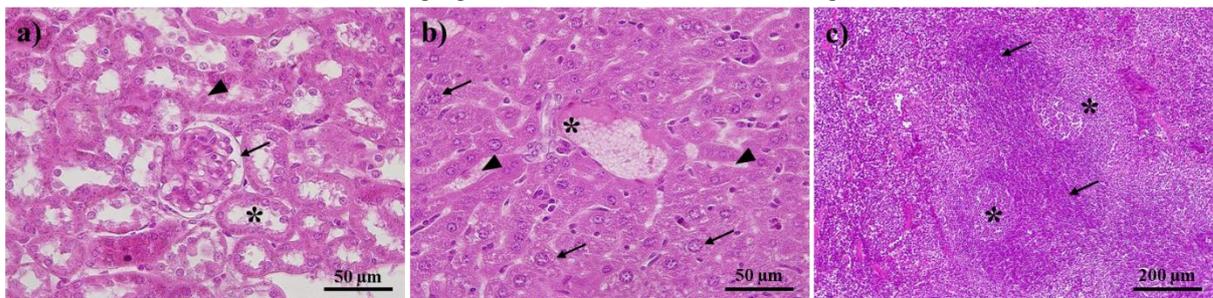
Parâmetros Hematológicos	Grupo controle	Óleo fixo	Óleo fixo repetição
Hemácias (milhões / μ L)	5,28 \pm 0,25	5,12 \pm 0,31	5,38 \pm 0,34
Hemoglobina (g/dL)	15,86 \pm 0,80	15,3 \pm 0,88	15,96 \pm 0,85
Hematócrito (%)	47,66 \pm 2,51	46,33 \pm 3,21	49 \pm 3,60
VCM (fL)	92,8 \pm 2,42	93,03 \pm 2,62	91,76 \pm 1,53
HCM (pg)	30,1 \pm 0,10	30,13 \pm 0,15	30,1 \pm 0,1
CHCM (%)	33,2 \pm 0,15	33,26 \pm 0,25	33,13 \pm 0,15
Leucócitos (cel/mm ³)	8.30 \pm 10,5	7,46 \pm 13,42	6.03 \pm 6,5
Linfócitos (%)	55 \pm 1	55 \pm 1	52 \pm 2
Monócitos (%)	1,33 \pm 0,57	2 \pm 1,73	1,66 \pm 1,15
Eosinófilos (%)	0,27 \pm 0,15	1,33 \pm 0,57	1 \pm 0
Plaquetas (cel/mm ³)	344.333 \pm 72.85	404.000 \pm 22.86	358.333 \pm 51,18

Fonte: Próprio Autor.

5.7 PARÂMETROS HISTOLÓGICOS

A análise histológica não evidenciou alterações estruturais nos rins, fígado e baço dos animais decorrentes da administração de 2000 mg kg⁻¹ do óleo fixo (figura 10).

Figura 10 - Análise histológica nos rins, fígado e baço dos animais decorrentes da administração de 2000 mg kg⁻¹ do óleo fixo da *Curcuma longa* L.



a) Rins: Glomérulos preservados com manutenção do espaço capsular (seta); túbulos contorcidos proximais (asterisco) e distais (cabeça de seta) com epitélio preservado.

b) Fígado: hepatócitos (seta) e tríade hepática (asterisco) preservados; sinusoides hepáticos bem definidos (cabeça de seta).

c) Baço: polpa vermelha (seta) e polpa branca (asterisco) bem definidas.

Fonte: Próprio Autor.

4 CONCLUSÃO

Os subprodutos curcumina e óleo fixo foram extraídos e purificados a partir dos rizomas triturados da *Curcuma longa* L, através do método de extração e

purificação simultânea utilizando o aparelho Góes. Sendo assim, afim, de trazer novas alternativas de combate as arboviroses causadas pelo *Aedes aegypti*, o presente estudo apresentou a atividade larvicida do óleo fixo extraído da *Curcuma longa* L, que se mostrou ativa nas larvas testadas do terceiro estágio do *Aedes aegypti*, demonstrando ser uma substância natural promissora ao combate do mosquito, impedindo a sua proliferação. O óleo fixo apresentou atividade inseticida excelente sobre as larvas do *Aedes aegypti*, onde demonstrou atividade até na sua menor concentração ($0,12 \text{ mg mL}^{-1}$), após 24h de exposição, atingindo 52,22% de mortalidade larval, além disso, na concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ alcançou cerca de 91,67%. Enquanto, a dosagem de $2,0 \text{ mg mL}^{-1}$ conseguiu atingir 100% de morte. Em relação a toxicidade em mamíferos o óleo fixo obtido dos rizomas de *Curcuma longa* L, quando administrado oralmente na dose de 2000 mg kg^{-1} , não apresentou toxicidade significativa.

Portanto, concluímos que o uso do óleo fixo de *Curcuma longa* L pode ser uma eficiente solução para o controle do *Aedes aegypti*, dessa maneira não se descarta estudos mais aprofundados, a fim de potencializar esta substância promissora. Afinal, produtos de origem natural diminuem o impacto que os inseticidas sintéticos ocasionam na saúde das pessoas e ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, B. B.; HARIKUMAR, K. B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, p. 40-59, 2009.

ALMEIDA, L. P. **Caracterização de pigmentos da Curcuma longa, L., avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese in vitro na produção de curcuminóides e óleos essenciais**. 2006. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2006.

ALONSO, J. Curcuma. In: ALONSO, J. **Tratado de Fitofarmácios e Nutracêuticos**. São Paulo: A C Farmacêutica, 2016. p. 364 – 373.

ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas e farmacológicas**. Argentina: Isis, 1998. p. 439 - 444.

ANVISA. RDC Nº 166, de 24 de Julho de 2017. Ministério da Saúde, Brasil, pp.

ARAUJO, A. Curcuma longa – antitumoral, antioxidante, antiinflamatório, antimicrobiano. **Pharma Nostra**. 2015.

ARAUJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of Curcuma longa L. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. v. 96. n. 5, p. 723-728, 2001.

BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules**, Basel, v. 16, p. 4567-4598, 2011.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, p. 646-656, 2009.

BEZERRA, I. C. F.; RAMOS, R. T. d. M.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L. Chromatographic profiles of extractives from leaves of Eugenia uniflora. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 28, p. 92-101, 2018.

BRADBURY, J. Beyond the fire-hazard mentality of medicine: the ecology of infectious diseases. **PloS Biology**, v. 1, n. 2, p. 148-151, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico]** - 2. ed. – Brasília, DF, 2017. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/outubro/06/Volume-Unico-2017.pdf>>. Acesso em 11 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento**. Brasília, DF, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito Aedes (dengue, chikungunya e zika)**. Brasília: Versão 1, v 52, n 28. Semanas epidemiológicas 28 (1 a 29) de 2021. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/agosto/02/boletim_epidemiologico_svs_28.pdf>. Acesso: 1 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika)**. Brasília, v. 51. Semanas Epidemiológicas 01 a 52. 2020. Disponível em <<https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2020/janeiro/20/Boletim-epidemiologico-SVS-02-1-.pdf>>. Acesso: 07 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 22 de 2022**. Brasília, v. 53, n.22, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2022/boletim-epidemiologico-vol-53-no22.pdf/view>>. Acesso em: 01 ago. de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Chikungunya: manejo clínico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/chikungunya_manejo_clinico.pdf>. Acesso: 11 nov. 2021.

CARVALHO, K.S. *et al.* Toxicological evaluation of essential oil from the leaves of *Croton tetradenius* (Euphorbiaceae) on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. **Parasitol Res**, v. 115, p. 3441–3448, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00436-016-5106-2>>. Acesso: 02 dez. 2021.

CECÍLIO FILHO, A.B. **Época e densidade de plantio sobre a fenologia e rendimento da cúrcuma (*Curcuma longa*)**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 1996. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/handle/1/33800>>. Acesso em: 10 dez. 2021.

CHEN, Z.; QUAN, L.; ZHOU, H.; ZHAO, Y. *et al.* Screening of active fractions from *Curcuma Longa Radix* isolated by HPLC and GC-MS for promotion of blood circulation and relief of pain. **J Ethnopharmacol**, 234, p. 68-75, Apr 24 2019.

CONSOLI, R.A.G.B.; OLIVEIRA, R.L. 1994. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz. 228 p. Disponível em: <<https://static.scielo.org/scielobooks/th/pdf/consoli-9788575412909.pdf>>. Acesso em 08 nov. 2021.

DAILY, J. W; YANG, M.; PARK, S. Efficacy of turmeric extracts and curcumin for alleviating the symptoms of joint arthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. **Journal of Medicinal Food**, v. 19, n. 8, p. 717-729, 2016.

Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27533649/> >. Acesso em: 10 dez. 2021.

DALL'ACQUA, S.; STOCCHERO, M.; BOSCHIERO, I.; SCHIAVON, M. et al. New findings on the in vivo antioxidant activity of Curcuma longa extract by an integrated (1)H NMR and HPLC-MS metabolomic approach. **Fitoterapia**, 109, p. 125-131, Mar 2016.

Donato, H.A.R., *et al.*, Feb 2017. Clinical comparison of two Photosensitizers for oral cavity decontamination. **Photomed. Laser Surg.** 35 (2), 105–110, 2017 (ISSN 1549-5418). Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27828768/>>. Acesso em: 26 nov. 2022.

EBC. Agência Brasil. **Casos de dengue aumentam 113,7% nos quatro primeiros meses de 2022.** Ebc, Brasília, 02 mai 2022. Saúde. Disponível em: < <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2022-05/casos-de-dengue-aumentam-1137-nos-quatro-primeiros-meses-de-2022> >. Acesso em: 01 Ago. 2022.

EINSTEIN. Hospital Israelita Albert Einstein, c2020. **NOTÍCIAS DE SAÚDE**, Página Inicial > Doenças Sintomas > Dengue. Disponível em: <<https://www.einstein.br/doencas-sintomas/dengue> >. Acesso em 11 nov. 2021.

ES. **Governo do estado do espírito santo: febre amarela**, c2021. Disponível em: <<https://mosquito.saude.es.gov.br/febre-amarela>>. Acesso em: 07 nov. 2021.

FERREIRA, José Tércio B.; CORRÊA, Arlene G.; VIEIRA, Paulo Cezar. **Produtos naturais no controle de insetos**. In: Produtos naturais no controle de insetos. 2001. p. 176-176.

FERREIRA, PP. **Extração, caracterização e aplicação de fécula de açafrão (Curcuma longa L.) no desenvolvimento de biscoito**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2014.

FIOCRUZ MINAS. **Dengue.** c2021. Disponível em: <<http://www.cpqrr.fiocruz.br/pg/dengue/> >. Acesso em 11 nov. 2021.

FIOCRUZ. **Ministério da Saúde lança campanha de combate ao Aedes aegypti**, 2021. Disponível em: < <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/noticias/2743-ministerio-da-saude-lanca-campanha-de-combate-ao-aedes-aegypti-2#:~:text=A%C3%A7%C3%B5es%20para%20combate%20ao%20mosquito&text=Entre%20as%20medidas%20que%20podem,o%20lixo%20de%20forma%20adequada> >. Acesso: 01 ago. 2022

FORATTINI, O.P. 2002. **Culicidologia Médica. Identificação, biologia e epidemiologia**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (FIOCRUZ). **Dengue, vírus e vetor.** c2021. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/sobreovirus.html>>. Acesso em 10 nov. 2021.

GIRME, A.; SASTE, G.; BALASUBRAMANIAM, A. K.; PAWAR, S. et al. Assessment of Curcuma longa extract for adulteration with synthetic curcumin by analytical investigations. **J Pharm Biomed Anal**, 191, p. 113603, Nov 30 2020.

GLOBO. **Dengue, zika e chikungunya provocaram 794 mortes em 2016**, segundo boletim. 2017. Disponível em: < <https://g1.globo.com/bemestar/noticia/dengue-zika-e-chikungunya-levaram-a-794-mortes-em-2016-segundo-boletim.ghtml> >. Acesso em 11 de nov. 2021.

GLOBO. **Memoria globo: microcefalia**, c2021. Disponível em: <<https://memoriaglobo.globo.com/jornalismo/coberturas/microcefalia/>>. Acesso em: 07 nov. 2021.

GLOBO. **Pernambuco tem aumento de 70,2% nos casos suspeitos de chikungunya e de 39,3% nas notificações de dengue**. c2022. Disponível em: < <https://g1.globo.com/pe/pernambuco/noticia/2022/05/10/pernambuco-tem-aumento-nos-casos-suspeitos-de-chikungunya-e-nas-notificacoes-de-dengue.ghtml> >. Acesso em: 02 de jun. 2022.

GOVINDARAJAN, M.; SIVAKUMAR, R.; RAJESWARI, M.; YOGALAKSHMI, K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from Mentha spicata (Linn.) against three mosquito species. **Parasitol Res**; v.110, n. 5, p. 2023-32, 2012.

GRANDI, T. S. M. **Tratado das plantas medicinais: Mineiras, Nativas e Cultivadas**. Belo Horizonte: Adaequatio Estúdio, 2014.

GUPTA, S. C. KISMALI, G.; AGGARWAL, B. B. Curcumina, um componente da cúrcuma: da fazenda à farmácia. **Biofatores**, v. 39, n. 1, p. 2-13, 2013. Disponível em: < <https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/biof.10> >. Acesso em: 22 set. 2022.

HERTWIG, I.F.V. **Plantas aromáticas e medicinais**. São Paulo: Icone, 1986.

INSTITUTO BUTANTAN. **Vacina contra a dengue desenvolvida pelo Butantan entra na reta final de estudos clínicos**, c2021. Disponível em: <<https://butantan.gov.br/noticias/vacina-contra-a-dengue-desenvolvida-pelo-butantan-entra-na-reta-final-de-estudos-clinicos>>. Acesso em: 07 nov. 2021.

INSTITUTO BUTANTAN. **Vacina da chikungunya é segura e gera resposta imune duradoura em 96% dos voluntários, apontam resultados finais de fase 3 nos EUA**. c2022. Disponível em: < <https://butantan.gov.br/noticias/vacina-da-chikungunya-e-segura-e-gera-resposta-imune-duradoura-em-96-dos-voluntarios-apontam-resultados-finais-de-fase-3-nos-eua#:~:text=Vacina%20da%20chikungunya%20%C3%A9%20segura,3%20nos%20EUA%20%2D%20Instituto%20Butantan> >. Acesso em: 03 ago. 2022.

KIM, M. H.; KIM, S. H.; YANG, W. M. Mechanisms of action of phytochemicals from medicinal herbs in the treatment of Alzheimer's disease. **Planta Med**, v. 80, n. 15, p. 1249-58, 2014.

KOCAADAM, B.; ŞANLIER, N. Curcumina, um componente ativo da cúrcuma (Cúrcuma longa), e seus efeitos na saúde. **Rev. Avaliações críticas em ciência alimentar e nutrição**, v. 57, n. 13, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2015.1077195?scroll=top&needAccess=true> . Acesso em: 22 set. 2022.

KUPTNIRATSAIKUL, V. *et al.* Efficacy and safety of Curcuma domestica extracts compared with ibuprofen in patients with knee osteoarthritis: a multicenter study. **Clinical Interventions in Aging**, v. 9, p. 451-458, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24672232/>>. Acesso em: 03 dez. 2021.

LESSER, J.; KITRON, U. A geografia social do zika no Brasil. **Estudos Avançados** [online], v. 30, n. 88, p. 167-175, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-40142016.30880012>>. Acesso em 07 nov. 2021.

LIJU, VB; JEENA, K; KUTTAN, R. Acute and subchronic toxicity as well as mutagenic evaluation of essential oil from turmeric (Curcuma longa L). **Food Chem Toxicol**, v.53, p. 52-61, 2013.

LIMA, J.B.P. *et al.* Resistance of Aedes aegypti to organophosphates in several Municipalities in the State of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, n. 3, p. 329- 333, 2003.

LORENZ, C.; BREVIGLIERI, E. L. VIRGINIO, F. **O fantástico mundo dos mosquitos**. Águas de São Pedro: Livronovo, 2018. Disponível em: <https://publicacoeseducativas.butantan.gov.br/web/mosquito/pages/pdf/89_Livro%20O%20FANT%20MUNDO%20DOS%20MOSQUITOS_internet.pdf>. Acesso em 10 nov. 2021.

LORENZI, H.; MATOS, A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. Ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MARSON, B. M.; CONCENTINO, V.; JUNKERT, A. M.; FACHI, M. M. *et al.* Validation of analytical methods in a pharmaceutical quality system: An overview focused on HPLC methods. **Química Nova**, 43, p. 1190-1203, 2020.

MARTINS, M.C.; RUSIG, O. Cúrcuma – um corante natural. **Boletim da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos**, v.26, p. 53-65, 1992.

MATA, A. R. *et al.* Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Food Science and Technology** [online], v. 24, n. 1, p.151-157, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000100027>>. Acesso em: 01 dez. 2021.

MATIADIS, D. *et al.* Curcumin Derivatives as Potential Mosquito Larvicidal Agents against Two Mosquito Vectors, Culex pipiens and Aedes albopictus. **Int J Mol Sci**. v. 22, n. 16, 2021.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas na fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária UFC, 2000.

MAY, R. M. Why worry about how many species and their loss? **PLoS Biology**, v. 9, n. 8, p.e1001130, 2011. Disponível em: <doi:10.1371/journal.pbio.1001130>. Acesso em: 20 out. 2021.

MÉDICOS SEM FRONTEIRA (MSF). **A dengue é uma doença febril aguda sistêmica de origem viral. Nos últimos 50 anos, o número de casos de dengue no mundo tem aumentado dramaticamente**. c2021. Disponível em: <<https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/dengue>>. Acesso em 10 nov. 2021.

MELO, A. C. R. **Estudo das folhas de sacaca (Croton cajucara Benth.) como bioinseticida contra as larvas de *Aedes aegypti***. In: I Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, 1°. Anais..., Natal, 2006.

NETO, B. d. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos - Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2 ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2001.

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE/BRASIL (OPAS/OMS). **Zika**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/zika#:~:text=A%20doen%C3%A7a%20causada%20pelo%20v%C3%ADrus,e%20conjuntivite%20n%C3%A3o%20purulenta%20que>>. Acesso: 20 nov. 2021.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Controle do *Aedes aegypti* em cenário de transmissão simultânea de COVID-19**, c2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/documentos/control-aedes-aegypti-escenario-transmission-simultanea-covid-19>>. Acesso em: 20 nov. 2021.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Dengue**. c2021. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/dengue>>. Acesso em: 20 out. 2021.

PADILHA, S.; WILSON, V. Z.; BUSHNELL, P. J. **Toxicology**, v.92, p.11-23. 1994.

PAULINO, G. C. L. **Extratos vegetais de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), como estratégia de obtenção de agentes biocidas para o controle de *Aedes aegypti***. 2016. 42 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia-Bioquímica) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2016.

PONTES, D. S. *et al.* **MORBIMORTALIDADE POR FEBRE HEMORRÁGICA DA DENGUE NO BRASIL**. *Temas em Saúde*, v. 20, n. 4, p. 193-205, 2020. Disponível em: <<https://temasemsaude.com/wp-content/uploads/2020/08/20409.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2021.

ROSS, R W. The Newala epidemic. III. The virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic. **The Journal of hygiene**, v. 54, n. 2, p. 177-91, 1956. Disponível em: <DOI: 10.1017/s0022172400044442 >. Acesso: 11 nov. 2021.

SAGNOU, M. *et al.* Evaluation of naturally occurring curcuminoids and related compounds against mosquito larvae. **Acta Trop**, v. 123, p. 190–195, 2012.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE (SESA). Governo do Estado do Espírito Santos. **Mosquito - Aedes aegypti**. c2021. Disponível em: <<https://mosquito.saude.es.gov.br/aedes-aegypti>>. Acesso em 10 nov. 2021.

SILVA, A.P., *et al.* **A new approach for eliminating microorganisms that cause onychomycosis**. In: International Photodynamic Association World Congress, 15^o, 2015, Rio de Janeiro, 2015.

SILVA, M. S. L. **Obtenção, semissíntese, caracterização e avaliação biológica da biflorina e dos três novos derivados N-acilidrazonas**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

SIMAS, N.K. *et al.* Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue-atividade larvicida de Myroxylon balsamum (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA (SBFGNOSIA). **Drogas aromáticas**. c2009. Disponível em: http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/drogas_aromaticas.html#:~:text=Os%20%C3%B3leos%20essenciais%2C%20tamb%C3%A9m%20chamados,os%20diferencia%20d os%20%C3%B3leos%20fixos.>. Acesso: 25 out. 2022.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL (SBTM). **Dengue: Brasil registra aumento de quase 86% nos casos em 2022, mas perigo está por vir, alertam pesquisadores**. c2022. Disponível em: <<https://www.sbmt.org.br/portal/dengue-brasil-registra-aumento-de-quase-86-nos-casos-em-2022-mas-perigo-esta-por-vir-alertam-pesquisadores/>>. Acesso: 15 jun. 2022.

TAUIL, P.L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública** [online], v. 18, n. 3, p. 867-871, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-311X2002000300030>>. Acesso: 10 nov. 2021.

TEIXEIRA, M. G.; BARRETO, M. L.; GUERRA, Z. Epidemiologia e medidas de prevenção do Dengue. **Inf. Epidemiol. Sus** [online], v.8, n.4, p.5-33, 1999. ISSN 0104-1673. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.5123/S0104-16731999000400002>>. Acesso em: 20 nov. 2021.

TISTAERT, C.; DEJAEGHER, B.; VANDER HEYDEN, Y. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: a review. **Analytica Chimica Acta**, 690, n. 2, p. 148-161, Apr 1 2011.

VASCONCELOS, P. F. C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 6, n. 2, p. 9-10, 2015.

VILA, R. *et al.* Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampaensis*, a new source of α -bisabolol. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 7, p. 2510-2514, 2010.

WANG, Y.; KHAN, I. A. Larvicidal and biting deterrent activity of essential oils of *Curcuma longa* Arturmerone and Curcuminoids against *Aedes aegypti* and *Anopheles quadrimaculatus* (Culicidae: Diptera). **J Med Ent**, v. 52, n. 5, p.979-986, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Insecticide Resistance and vector control: Seventeenth Report of the WHO Expert Committee on Insecticides**. Série n 443. Geneva: WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1970. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40771/1/>>. Acesso em: 02 dez. 2021.

YE, Y.; ZHANG, X.; CHEN, X.; XU, Y. *et al.* The use of widely targeted metabolomics profiling to quantify differences in medicinally important compounds from five *Curcuma* (Zingiberaceae) species. **Industrial Crops and Products**, 175, 2022.

ANEXO A – Certificado CEUA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife – PE – Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 26 de outubro de 2021

Ofício nº74/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Prof. Ivone Antonia de Souza
 Departamento de Antibióticos
 Centro de Biociências
 processo nº0078/2021

Certificamos que a proposta intitulada “**Estudo fitoquímico e avaliação toxicológica dos subprodutos dos rizomas de *Curcuma longa* e frutos de *Piper nigrum* sobre o *Aedes aegypti* e *Mus musculus***”. registrado com o nº0078/2021 sob a responsabilidade da Prof. Ivone Antonia de Souza envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 28/09/2021

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	14/02/2022 a 17/06/2022
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico
Nº de animais	70
Peso/Idade	Camundongos = 25-28g (60 dias)
Sexo	Femea (70)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Laboratório de Pesquisa de Toxicologia do Departamento de Antibióticos da UFPE